

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Учебная программа дисциплины

➤ **Конспект лекций**

Методические указания по лабораторным работам

Методические указания по самостоятельной работе

Банк тестовых заданий в системе UniTest



УДК 574/577
ББК 28.57
Ф48

Авторы:

В. М. Гольд, Н. А. Гаевский, Т. И. Голованова, Н. П. Белоног, Т. Б. Горбанева

Электронный учебно-методический комплекс по дисциплине «Физиология растений» подготовлен в рамках инновационной образовательной программы «Создание и развитие департамента физико-химической биологии и фундаментальной экологии», реализованной в ФГОУ ВПО СФУ в 2007 г.

Рецензенты:

Красноярский краевой фонд науки;

Экспертная комиссия СФУ по подготовке учебно-методических комплексов дисциплин

Ф48 Физиология растений. Версия 1.0 [Электронный ресурс] : конспект лекций / В. М. Гольд, Н. А. Гаевский, Т. И. Голованова и др. – Электрон. дан. (2 Мб). – Красноярск : ИПК СФУ, 2008. – (Физиология растений : УМКД № 165-2007 / рук. творч. коллектива В. М. Гольд). – 1 электрон. опт. диск (DVD). – Систем. требования : *Intel Pentium* (или аналогичный процессор других производителей) 1 ГГц ; 512 Мб оперативной памяти ; 2 Мб свободного дискового пространства ; привод *DVD* ; операционная система *Microsoft Windows 2000 SP 4 / XP SP 2 / Vista* (32 бит) ; *Adobe Reader 7.0* (или аналогичный продукт для чтения файлов формата *pdf*).

ISBN 978-5-7638-1275-6 (комплекса)

ISBN 978-5-7638-1488-0 (конспекта лекций)

Номер гос. регистрации в ФГУП НТЦ «Информрегистр» 0320802725 от 20.12.2008 г. (комплекса)

Настоящее издание является частью электронного учебно-методического комплекса по дисциплине «Физиология растений», включающего учебную программу, методические указания по лабораторным работам, методические указания по самостоятельной работе, контрольно-измерительные материалы «Физиология растений. Банк тестовых заданий», наглядное пособие «Физиология растений. Презентационные материалы».

Изложены закономерности жизнедеятельности растений, биохимические, молекулярные и генетические основы взаимозаменяемости сложных функций и механизмов их регуляции в системе целого организма. Представлены особенности физиологических процессов, структурно-функциональной организации растений, а также современные методы их исследования.

Предназначен для студентов направления подготовки бакалавров 020200.62 «Биология» укрупненной группы 020000 «Естественные науки».

© Сибирский федеральный университет, 2008

Рекомендовано к изданию

Инновационно-методическим управлением СФУ

Редактор В. Р. Наумова

Разработка и оформление электронного образовательного ресурса: Центр технологий электронного обучения информационно-аналитического департамента СФУ; лаборатория по разработке мультимедийных электронных образовательных ресурсов при КрЦНИТ

Содержимое ресурса охраняется законом об авторском праве. Несанкционированное копирование и использование данного продукта запрещается. Встречающиеся названия программного обеспечения, изделий, устройств или систем могут являться зарегистрированными товарными знаками тех или иных фирм.

Подп. к использованию 10.09.2008

Объем 2 Мб

Красноярск: СФУ, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

Оглавление

МОДУЛЬ 1	8
Раздел 1. Физиология растений как наука. Задачи физиологии растений	8
Лекция 1. Введение, цели и задачи, предмет и методы изучения, история	8
Физиология растений – наука о жизнедеятельности растительного организма	8
История становления физиологии растений как науки	8
Предмет, цели и задачи курса	9
Методы исследования	9
Место физиологии растений в системе биологических наук	9
Место зеленого растения в экономике природы	13
Население Земли и энергетические (пищевые) ресурсы	13
Раздел 2. Физиология растительной клетки	13
Лекция 2. Физиология растительной клетки. Клетка как осмотическая система	13
Общая схема организации растительной клетки	13
Методы исследования растительных клеток	14
Основные закономерности поглощения воды клеткой	15
Осмос. Растительная клетка как осмотическая система. Осмотическое и тургорное давление. Сосущая сила	15
Химический потенциал воды и водный потенциал клетки	17
Раздел 3. Водный режим растений	19
Лекция 3. Водный режим растений. Функции и формы воды в растениях	19
Значение воды для жизнедеятельности растений	19
Формы воды в клетке	19
Корневая система как орган поглощения воды	20
Корневое давление: значение, механизм и методы определения.	21
Гуттация и плач растений	21
Формы воды в почве. Водные характеристики почвы	22
Физиологическая засуха и ее причины. Коэффициент завядания	22
Лекция 4. Поглощение. Транспорт воды. Транспирация. Экология водного режима	23
Механизмы передвижения воды по растению. Теория сцепления	23
Транспирация: ее формы и физиологическое значение	23
Количественные показатели транспирации	24
Кутикулярная транспирация	25
Устьичная транспирация и механизм ее регулирования	26
Особенности водного обмена у растений разных экологических групп	28
Роль растений в круговороте воды в биосфере	30
Раздел 4. Минеральное питание растений	31
Лекция 5. Минеральное питание. Роль минеральных элементов	31
Роль растений в круговороте минеральных элементов в биосфере	31

Потребность растений в элементах минерального питания	31
Содержание и соотношение минеральных элементов в почве и в растениях и факторы, их определяющие	31
Классификации элементов, необходимых для растений	32
Физиологическая роль макро- и микроэлементов.....	33
Лекция 6. Механизмы поглощения и транспорта минеральных элементов.	
Основы применения минеральных удобрений	38
Поглощение веществ клетками корня.....	38
Ближний и дальний транспорт ионов в тканях растения.....	40
Перераспределение и реутилизация ионов в растении.	
Взаимодействие ионов (антагонизм, синергизм, аддитивность).....	41
Корневое питание как важнейший фактор управления продуктивностью и качеством урожая.....	42
МОДУЛЬ 2	44
Раздел 5. Дыхание растений.....	44
Лекция 7. Физиологическая роль дыхания.	
Специфика дыхания у растений	44
Определение процесса клеточного дыхания. Общая схема процесса дыхания	44
Типы окислительно-восстановительных реакций	44
Каталитические системы дыхания. Механизмы активации водорода субстрата и молекулярного кислорода.....	45
Специфика дыхания у растений.....	46
Лекция 8. Основные пути диссимиляции углеводов	47
Гликолиз.....	47
Превращение пирувата.....	48
Цикл Кребса	48
Глиоксилатный цикл.....	50
Апотомический путь	50
Лекция 9. Электрон-транспортная цепь дыхания растений	51
Структурная организация ЭТЦ дыхания.....	51
Комплексы переносчиков электронов	52
Образование трансмембранного потенциала протонов.....	53
Немитохондриальные ЭТЦ.....	53
Лекция 10. Фосфорилирование.....	53
Субстратное фотофосфорилирование	53
Окислительное фосфорилирование	55
Хемиосмотический принцип сопряжения.....	55
АТФ-синтаза	56
Факторы, влияющие на окислительное фосфорилирование	56
Лекция 11. Роль дыхания в продукционном процессе	57
Взаимосвязь дыхания с другими процессами обмена.....	57
Составляющие дыхания: дыхание роста, дыхание поддержания	57
Влияние внешних факторов на процесс дыхания.....	59
Изменение интенсивности дыхания в онтогенезе.....	60

Раздел 6. Фотосинтез растений	60
Лекция 12. Общие представления о природе фотосинтеза и его роли в развитии биосферы	60
Определение понятия «фотосинтез»	60
Развитие учения о фотосинтезе	61
Краткий систематический обзор фотосинтетиков	63
Основные балансовые уравнения фотосинтеза	64
Структурная организация фотосинтетического аппарата прокариот и эукариот	65
Роль фотосинтеза в процессах энергетического и пластического обмена растительного организма	66
Масштабы фотосинтетической деятельности в биосфере. Эволюция биосферы и фотосинтез	67
Лекция 13. Пигменты фотосинтеза	68
Хлорофиллы: химическая структура, спектральные свойства, функции	68
Основные этапы биосинтеза молекулы хлорофилла	70
Хлорофилл-белковые комплексы	73
Фикобилины: распространение, химическое строение, спектральные свойства, роль в фотосинтезе	73
Каротиноиды: химическое строение, спектральные свойства, функции	73
Лекция 14. Первичные процессы фотосинтеза	74
Поглощение света и передача энергии возбуждения	74
Возбужденное состояние электронов и пути дезактивации	74
Представление о фотосинтетической единице	75
Антенные комплексы	76
Преобразование энергии в реакционных центрах	77
Представление о совместном функционировании двух фотосистем. Эффекты Эмерсона	77
Электрон-транспортная цепь фотосинтеза	78
Лекция 15. Электрон-транспортная цепь фотосинтеза и фотофосфорилирование	79
Основные функциональные комплексы ЭТЦ	79
Системы фотоокисления воды и выделения кислорода при фотосинтезе	79
Типы функциональной организации ЭТЦ: нециклический, циклический и псевдоциклический потоки электронов и фотофосфорилирование	80
Стехиометрия сопряжения электронного транспорта и образования АТФ	81
Регуляция электрон-транспортной цепи фотосинтеза	82
Лекция 16. Темновая стадия фотосинтеза	83
Природа первичных акцепторов углекислого газа (углекислоты)	83
Фиксация углекислого газа в цикле Кальвина-Бенсона, ключевые ферменты	84
Первичные продукты фотосинтеза	86
Фотодыхание	86
Фиксация углекислого газа в цикле Хэтча-Слэка-Карпилова	87
Особенности углекислотного метаболизма у C_3 -, C_4 -, и CAM-растений	88
Эволюция механизма концентрирования CO_2	89

Лекция 17. Экология фотосинтеза	90
Влияние на фотосинтез температуры, условий освещения, содержания углекислоты, условий минерального питания, водоснабжения	90
Показатели эффективности работы фотосинтетического аппарата (квантовый выход, ассимиляционное число)	93
Фотосинтез в онтогенезе растения	94
МОДУЛЬ 3	95
Раздел 7. Рост и развитие растений.....	95
Лекция 18. Основные понятия процессов роста и развития растений	95
Общие представления о росте и развитии растений.....	95
Закономерности, типы роста	97
Кинетика ростовых процессов	98
Основные этапы развития растений.....	99
Лекция 19. Фазы роста растений и их характеристики.....	101
Клеточные основы роста	101
Особенности роста органов растений.....	103
Корреляции ростовых процессов различных органов, регенерация	105
Лекция 20. Регуляция ростовых процессов	108
Влияние внутренних и внешних факторов на рост и развитие растений	108
Физиологические основы действия фитогормонов.....	109
Фитохромная и криптохромная системы. Электрофизиологические процессы роста	110
Электротонические поля и токи.....	112
Потенциал действия (ПД)	112
Лекция 21. Ростовые движения растений	113
Процессы раздражимости и возбудимости	113
Типы движения растений и их механизмы	115
Лекция 22. Развитие растений	119
Основные этапы онтогенеза.....	119
Морфологические, физиологические и метаболические особенности этапов онтогенеза	119
Состояние покоя у растений. Типы покоя и их значение для жизнедеятельности растений.....	124
МОДУЛЬ 4	126
Раздел 8. Физиологические основы устойчивости растений	126
Лекция 23. Устойчивость как приспособление растений к условиям существования.....	126
Общие понятия: стресс, адаптация, устойчивость.....	126
Типы ответных реакций растений на действие неблагоприятных факторов ...	129
Лекция 24. Действие факторов среды на растительный организм	131
Характеристика факторов внешней среды.....	131
Механизмы устойчивости и пути адаптации растений к различным неблагоприятным факторам.....	131
Закаливание растений	134

Радиоустойчивость растений и ее механизмы.....	135
Лекция 25. Общие механизмы устойчивости и характеристика адаптационного процесса	136
Общие принципы адаптивных реакций растений на экологический стресс.....	136
Изменение экспрессии генов. Синтез стрессовых, мембранных, структурных белков. Перестройка мембранных систем	137
Биохимическая адаптация.....	139
Пути повышения устойчивости растений	140
Лекция 26. Физиология растений – теоретическая основа их продуктивности	141
Физиология растений – теоретическая основа растениеводства и новых отраслей биотехнологии	141
Физиологические основы продуктивности растений.....	143
Главные проблемы современной фитофизиологии	143
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	148

МОДУЛЬ 1

Раздел 1. Физиология растений как наука. Задачи физиологии растений

Лекция 1. Введение, цели и задачи, предмет и методы изучения, история

Физиология растений – наука о жизнедеятельности растительного организма

Курс физиологии растений справедливо считают одним из самых сложных и трудных среди биологических дисциплин.

Растения отличаются от других организмов автотрофным питанием, которое основано на использовании энергии света, наличием у клеток плотных состоящих в основном из целлюлозы оболочек. Ж. Б. Ламарк первым выделил способ питания в качестве главного отличительного признака растений и животных. Кроме того, растения не способны к мгновенному сокращению своих твердых частей и к произвольному перемещению с одного места на другое.

Физиология растений – интенсивно развивающаяся наука, о чем свидетельствуют многочисленные научные общества, издания, симпозиумы и конференции.

История становления физиологии растений как науки

Трудно выделить какую-либо из работ прошлого в области биологии, которая легла бы в основу физиологии растений. В.В. Полевой, автор базового учебника по физиологии растений, в качестве таковой рассматривает работу Я.Б. Ван Гельмонта (1634), в которой ученый сделан вывод о том, что вода используется для построения органической массы растения. В большинстве учебников становление физиологии растений как самостоятельной науки относят к 18 веку.

В 1727 г. С. Гейлс установил, что движение воды по растению вызывают корневое давление и транспирация. В 1771 г. Дж. Пристли открыл способность зеленых растений выделять на свету кислород. В 1782 г. Ж. Сенебье назвал поглощение CO_2 на свету «углекислотным дыханием». В 1797–1804 гг. Н. Т. Соссюр открыл дыхание у растений и рассчитал баланс газов при фотосинтезе. В 1800 г. Ж. Сенебье опубликовал пятитомный трактат «Physiologie vegetale», в котором впервые определил физиологию растений как самостоятельную науку, собрал, обработал и осмыслил известные к тому времени данные, сформулировал основные задачи физиологии растений, определил ее предмет и используемые методы.



В России основателем физиологии и биохимии растений справедливо считается Андрей Сергеевич Фаминцын (1835–1918) – автор первого учебника (1887), создатель первой университетской кафедры и академической лаборатории физиологии растений (1889), которая в последующем была преобразована в Институт физиологии растений. А.С. Фаминцын основал ряд направлений в области эволюционной физиологии и биохимии растений. Наиболее известны его взгляды на симбиотическую эволюцию, единство принципов жизнедеятельности растительных и животных организмов.

Список имен известных ученых-физиологов растений с кратким указанием тем и направлений их работы мог бы составить несколько сотен страниц.

Предмет, цели и задачи курса

Физиология растений изучает общие закономерности жизнедеятельности растительных организмов и является частью биологической науки. Цель дисциплины «Физиология растений» – раскрыть сущность этих процессов, показать пути их регуляции и управления. «Физиолог не может довольствоваться пассивной ролью наблюдателя, как экспериментатор, он является деятелем, управляющим природой», – писал К. А. Тимирязев.

Студенты-биологи, используя свою физико-математическую и физико-химическую подготовку, должны на основе лекционного курса, лабораторных занятий и самостоятельной работы вникнуть в суть основных физиологических процессов растений, быть в курсе современных тенденций развития науки и ее достижений. Курс «Физиология растений» предполагает формирование у студентов общенаучных, профессиональных и инструментальных компетенций.

Методы исследования

Исследователю в области физиологии растений приходится решать задачи количественного определения показателей роста и развития растений, энергетического и пластического обмена (фотосинтеза и дыхания), водного и минерального обмена и др. на разных уровнях организации живой материи. В арсенал современных методов входят методы культивирования растений, спектрофотометрические методы, оптико-акустические, хроматографические, электрохимические, методы световой и электронной спектроскопии и мн. др.

Место физиологии растений в системе биологических наук

Физиология растений наравне с ботаникой является основополагающей наукой при изучении растительного мира. Сравнительная физиология растений выполняет связующую роль между царством растений и животных. Структурной единицей, позволяющей производить сравнение функций раз-

личающихся живых систем, является клетка с ее внутренней организацией, особенностями хранения и передачи наследственной информации.

Основные направления современной физиологии растений сформировались в конце XIX – начале XX вв. Среди них: фотосинтез (Ж. Б. Буссенго, Ю. Сакс, А. С. Фаминцын, К. А. Тимирязев, М. С. Цвет, М. Ненцкий, Л. Мархлевский, А. Н. Бах); дыхание (А. С. Фаминцын, И. П. Бородин, Л. Пастер, А. Н. Бах, Г. Э. Бертран); водный режим (Г. Дютроше, Г. де Фриз, Ю. Сакс); минеральное питание (Ю. Либих, Ж. Б. Буссенго, Г. Гельригель, И. Кноп, С. Н. Виноградский, М. В. Бейеринк, Д. Н. Прянишников); транспорт веществ (В. Пфеффер, Е. Ф. Вотчал); рост и развитие (Ю. Сакс, А. С. Фаминцын, О. В. Баранецкий, А. Ф. Баталин, Н. Ф. Леваковский, Г. Фехтинг, Г. Клебс); движение растений (Т. Найт, Ю. Сакс, Ч. Дарвин, Ю. Визнер, В. А. Ротерт, В. Пфеффер); раздражимость (Б. Сандерсон, Ч. Дарвин, Н. Ф. Леваковский); устойчивость растений (Д. И. Ивановский, К. А. Тимирязев, Г. Молиш); эволюционная физиология растений (Ч. Дарвин, К. Бернар, А. С. Фаминцын, К. А. Тимирязев).

В XX веке возникли новые направления: биохимия, биотехнология, молекулярная биология растений, генная инженерия, биофизика растений, эволюционная и экологическая физиология растений. Наблюдается определенная дифференциация науки на молекулярное и экологическое направления. Научный рынок труда уже сейчас нуждается в специалистах в области физиологии растений, о чем свидетельствуют объявления в зарубежных изданиях о вакансиях.

Основой для развития физиологии растений в СССР послужили труды К. А. Тимирязева, В. И. Палладина, С. П. Костычева и др. Плодотворно изучались зимостойкость, засухо- и солеустойчивость растений (Н. А. Максимов, И. И. Туманов, П. А. Генкель и др.). Успешной была разработка теоретических основ питания растений в связи с проблемой повышения урожайности (Д. Н. Прянишников, Д. А. Сабинин, Я. В. Пейве и др.). Начиная с 50-х гг. XX века на первое место вышли исследования обмена веществ и тонкой электрон-микроскопической организации клеток.

Сделан вклад в выяснение фотохимической стадии фотосинтеза, обнаружение разнокачественности его продуктов, выяснение путей биосинтеза фотосинтетических пигментов, а также в создание теории, связывающей фотосинтетическую деятельность растений с их продуктивностью (А. А. Рихтер, А. А. Ничипорович, Т. Н. Годнев, А. А. Красновский, А. А. Шлык, В. Б. Евстигнеев и др.). Ведутся работы по выяснению физиологических и биохимических основ дыхания, азотистого обмена, транспорта метаболитов, биосинтеза веществ вторичного происхождения (А. Л. Курсанов, М. Н. Запрометов, О. В. Заленский, Б. А. Рубин). Есть успехи в изучении факторов, определяющих рост и развитие растений, фотопериодизма, гормональных систем (М. Х. Чайлахян, О. Н. Кулаева и др.). В 70-х гг. в результате использования культуры растительных тканей были получены новые гибридные формы растений табака (Р. Г. Бутенко). Метод, основанный на слиянии протопластов двух клеток, открыл новые возможности преодоления несовместимости рас-

тительных тканей и получения отдалённых гибридов. Неоценимый вклад в развитие физиологии растений и подготовку нового поколения физиологов растений сделал Всеволод Владимирович Полевой (1931–2001) – крупнейший ученый, ведущий физиолог, биохимик и биофизик растений.

Состояние науки на рубеже двух тысячелетий обсудили участники IV съезда Общества физиологов России (Москва, 1999). Президент Общества академик А.Т. Мокроносов обратился к делегатам съезда со словами:

«Дорогие коллеги!

Приближается 200-летний юбилей физиологии растений. За этот период она накопила огромный материал по физико-химической организации, интеграции, саморегуляции функциональных систем и адаптации растительного организма и стала теоретической основой высокоэффективного земледелия. Вместе с другими биологическими науками физиология растений стала фундаментальной основой трех “зеленых революций”, каждая из которых приводила к удвоению урожая....

XXI век мы встречаем на пороге новой постгеномной эры в биологии. Ее появление обязано стремительным успехам в дешифровке первичной структуры ДНК, в создании рекомбинантных молекул и в развитии генной инженерии. В наши дни секвенирование нуклеиновых кислот стало хотя и дорогим, но тривиальным и рутинным делом. Оно приобрело форму товарного продукта, интерес к которому интенсивно растет... В 2004 г. будет полностью секвенирован геном первого высшего организма – растения арабидопсиса. Когда ... первичная структура генома будет записана в цифровой или иной системе, когда разрыв между потоком информации и уровнем его осмысления достигнет угрожающих размеров, неизбежно встанет ключевой вопрос гносеологии: “Ну и что?”. На поставленный вопрос суждено ответить лишь наукам синтетическим, таким, как физиология, способным к интеграции сложных структур и систем, вплоть до процессов дифференцировки клеток.

Не исключено, что широкие возможности генной инженерии станут базой для новых “зеленых революций”. Однако прежде чем это произойдет, должен быть просчитан возможный риск от массового распространения рекомбинантных технологий Вполне вероятно, что наши дети познакомятся с последствиями освобождения “геномного джинна” уже в середине XXI века.

Важно отметить еще одну существенную смену ориентиров, которая произошла в 50-х годах XX столетия. До этого времени абсолютным приоритетом физиологии растений являлась разработка теории продуктивности сельскохозяйственных культур. Однако сегодня уровень знаний и технологий настолько высок, что величина и качество урожая лимитируются не развитием фундаментальной науки, а факторами экономического и социального характера.

Начиная с 50–60-х годов все более приоритетными для физиологии становятся проблемы локальной, региональной и глобальной экологии. Предстоит на физико-химической основе расшифровать последовательность

всех этапов адаптационного синдрома растений применительно к множеству природных и техногенных стрессоров. Потребуется поиск методов и технологий решения различных проблем промышленной экологии, включая зоны экологических катастроф. Физиологии растений предстоит внести свой вклад в исследование биологического разнообразия, сохранение и изучение природных экосистем, таких как сибирская тайга, полярная тундра, джунгли Юго-Восточной Азии и уникальная экосистема Амазонии... Поведение растений в нестабильной среде станет центральной проблемой экологической физиологии предстоящего столетия.

Нет сомнения, что физиология растений в III тысячелетии будет, по-прежнему, играть ключевую роль в исследовании жизни зеленого растения, будет активно востребована человеческой цивилизацией и займет свое достойное место в поддержании стабильного состояния биосферы и ноосферы, а также в глобальной информационной паутине Интернета и компьютерных технологий и их оптимального использования. Решение столь необычных по своим масштабам и сложности проблем во многом будет определяться объединением усилий и тесной координацией физиологов растений и специалистов смежных наук».

Прогнозы А.Т. Мокроносова полностью подтвердились. На очередном, шестом, съезде Общества физиологов растений России (Сыктывкар, 2007) были представлены следующие направления: энергетика и метаболизм растительной клетки; геном растений и регуляция его экспрессии; гормоны и онтогенез; стресс, адаптации и выживание растений; физиология фотосинтеза и глобальная экология; клеточная биология и биотехнология, биология трансгенных растений; продукционный процесс; преподавание физиологии и биохимии растений. Их можно сгруппировать в три модуля: 1 – изучение закономерностей жизнедеятельности растений (механизмы питания, роста, движения, размножения и др.); 2 – разработка теоретических основ получения максимальных урожаев сельскохозяйственных культур; 3 – разработка установок для осуществления процессов фотосинтеза в искусственных условиях.

Первый модуль заложен в определении самой физиологии растений. Второй модуль по-прежнему остается наиболее актуальным, так как рост населения нашей планеты и сокращение посевных площадей оставляют лишь один путь – путь интенсификации сельскохозяйственного производства не только пищевых, технических, лекарственных и декоративных культур, но и растений для получения топлива. Третий в настоящее время кажется фантастическим. Однако вряд ли люди, овладев тайнами, не попытаются осуществить эти процессы в лабораторных, а затем в промышленных установках.

Место зеленого растения в экономике природы

Автотрофные растения Мирового океана за год способны превращать в органическое вещество $20\text{--}155 \cdot 10^9$ т углерода. Наземные растения фиксируют $16\text{--}24 \cdot 10^9$ т углерода. Для сравнения в угольном эквиваленте ежегодно на Земле освобождается $3\text{--}4 \cdot 10^9$ т углерода. Ежегодная продукция кислорода составляет 10^{11} тонн. На протяжении миллиардов лет в атмосфере Земли сформировалось равновесие кислорода (20 %) и углекислого газа (0,033 %). Ежегодно регистрируется увеличение концентрации углекислого газа на 1,5 % от исходного значения.

Население Земли и энергетические (пищевые) ресурсы

Объем производимой растениями биомассы распределяется между водорослями и наземными растениями. Только наземные растения накапливают ежегодно в форме углеводов $5\text{--}10^{17}$ ккал. Даже 1 % этой энергии достаточно для питания 5 млрд. человек. Тем не менее, рост населения Земли и рост энергопотребления может нарушить исторически сложившийся баланс вещества и энергии в биосфере.

Раздел 2. Физиология растительной клетки**Лекция 2. Физиология растительной клетки.
Клетка как осмотическая система****Общая схема организации растительной клетки**

Высшие растения являются многоклеточными организмами, состоящими из множества клеток, выполняющих специализированные функции. Несмотря на то, что дифференцированные клетки могут сильно отличаться друг от друга, все они как клетки эукариотического организма имеют ядро, цитоплазму, ряд клеточных органелл и систему мембран, которая не только отделяет клетку от окружающей среды, но и разделяет на компартменты ее внутреннее содержимое.

Специфической особенностью строения растительной клетки является наличие системы пластид, крупной центральной вакуоли, а также прочной полисахаридной клеточной стенки. Растительная клетка содержит три относительно автономные, но тесно взаимодействующие генетические системы: ядерную, митохондриальную и пластидную. Для растительных клеток характерен особый тип роста – рост растяжением. У делящихся растительных клеток отсутствуют центриоли.

Поскольку клеточные стенки клеток одной ткани или органа непосредственно контактируют друг с другом, то возникает единая система клеточных

стенок, которая называется *апопластом*.

Протопласты растительной клетки через поры клеточных стенок связаны между собой плазмодесмами, которые соединяют их в цитоплазматическое целое – *симпласт*. Каждая плазмодесма представляет собой тяж гиалоплазмы, окруженный плазмалеммой, центральную часть которого занимает десмотрубка, которая связывает эндоплазматический ретикулум соседних клеток. Непрерывную систему эндоплазматического ретикулума растения называют *эндопластом*.

Таким образом, растительный организм представляет собой единую систему дифференцированных клеток, выполняющих определенные функции и имеющих обусловленные этими функциями особенности строения. Дифференцировка клеток обусловлена изменением активности генома клетки, экспрессией одних генов и подавлением активности других. Специфической особенностью растительных клеток является тотипотентность – способность к дедифференцировке и реализации всей имеющейся в клетке генетической информации, способность дедифференцированной клетки дать начало новому организму. Дифференцированные животные клетки, как правило, тотипотентностью не обладают.

Методы исследования растительных клеток

Основными методами изучения структуры растительной клетки являются методы визуального наблюдения с помощью увеличительных приборов.

Световая микроскопия – изучение объекта с использованием световых микроскопов. Так как в этих оптических приборах используются источники видимого света (400–700 нм), они повышают разрешающую способность человеческого глаза в 1000 раз, что позволяет видеть объекты величиной 0,2–0,3 мкм. Метод «темного поля» позволяет различать объекты величиной менее 0,2 мкм.

Фазово-контрастная, интерференционная и поляризационная микроскопия позволяют изучать детальную структуру живых клеток.

С помощью световой микроскопии можно увидеть многие органоиды клетки: клеточную стенку, ядро, хлоропласты, митохондрии.

Электронная микроскопия – изучение ультраструктуры клеток, зафиксированных специальным образом. Разрешающая способность электронных микроскопов – 0,1 нм.

Электронная микроскопия позволяет изучать особенности мембранных структур органоидов, зависимость их изменений от влияния различных факторов.

Основные закономерности поглощения воды клеткой

Поглощение воды из внешней среды – обязательное условие функционирования любого живого организма. Вода может поступать в клетки растений за счет набухания биокolloидов, увеличения степени их гидратации. Этот процесс характерен для сухих семян при помещении их во влажную среду (для прорастания). В основе перемещения молекул – диффузия, т. е. процесс, ведущий к равномерному распределению молекул газов или растворенного вещества и растворителя благодаря их постоянному движению. Диффузия всегда направлена от большей концентрации вещества к меньшей.

**Осмоз. Растительная клетка как осмотическая система.
Осмотическое и тургорное давление. Сосущая сила**

Диффузия воды через полупроницаемую мембрану называется осмосом. Полупроницаемая мембрана – это мембрана, хорошо проницаемая для воды и непроницаемая или плохо проницаемая для растворенных в воде веществ. Осмотическая ячейка – это пространство, окруженное полупроницаемой мембраной и заполненное каким-либо водным раствором, способным развивать определенное осмотическое давление.

Осмотическое давление (диффузное давление) – термодинамический параметр, характеризующий стремление раствора к понижению концентрации при соприкосновении с чистым растворителем вследствие встречной диффузии молекул растворённого вещества и растворителя. Если раствор отделен от чистого растворителя полупроницаемой мембраной, то возможна лишь односторонняя диффузия – осмотическое всасывание растворителя через мембрану в раствор. В этом случае осмотическое давление становится доступной для прямого измерения величиной. Оно равно избыточному давлению, приложенному со стороны раствора при осмотическом равновесии.

Осмотическое давление обусловлено понижением химического потенциала растворителя в присутствии растворённого вещества. Тенденция системы выравнять химические потенциалы во всех частях своего объема и переходить в состояние с более низким уровнем свободной энергии вызывает осмотический (диффузионный) перенос вещества. Осмотическое давление в идеальных и предельно разбавленных растворах не зависит от природы растворителя и растворённых веществ; при постоянной температуре оно определяется только числом «кинетических элементов» (ионов, молекул, ассоциатов или коллоидных частиц) в единице объема раствора. Осмотическое давление (P) численно равно давлению, которое оказало бы растворённое вещество, если бы оно при данной температуре находилось в состоянии идеального газа и занимало объем, равный объему раствора.

Осмотическое давление измеряют с помощью специальных приборов (осмометров), определяя избыточное гидростатическое давление столба жидкости в трубке осмометра после установления осмотического равновесия.

Осмоз является основным механизмом поступления воды в растительную клетку.

Все клеточные мембраны, в том числе плазмалемма и тонопласт, являются полупроницаемыми мембранами. Вода проходит в клетку через водные поры в плазмалемме, образованные специальными белками – аквапоринами.

Внутри вакуоли («осмотической ячейки») клеточный сок развивает осмотическое давление π :

$$\pi = i C R T,$$

где C – концентрация раствора в молях; T – абсолютная температура; R – газовая постоянная $0,082 \text{ л} \times \text{атм/град} \times \text{моль}$; i – изотонический коэффициент, равный $1 + \alpha(n-1)$.

Значение i находится так:

$$i = 1 + \alpha(n-1),$$

где α – степень электролитической диссоциации; n – число ионов, на которые распадается молекула электролита.

Благодаря осмотическому притоку воды в клетку там возникает гидростатическое давление, называемое тургорным. Это давление прижимает цитоплазму к клеточной стенке и растягивает ее. Клеточная стенка имеет ограниченную эластичность и оказывает равное противодействие. Эластическое растяжение ткани благодаря тургорному давлению ее клеток придает твердость неодревесневшим частям растений. Завядающие побеги становятся дряблыми, так как при потере воды тургорное давление падает. Тургорное давление противодействует притоку воды в клетку.

Давление, с которым вода осмотически притекает в клетку, равно, таким образом, разности осмотического давления π и тургорного давления P . Эту величину называют сосущей силой S :

$$S = \pi - P.$$

Вода поступает в клетку из внешнего раствора, если его потенциальное осмотическое давление меньше сосущей силы клетки, и, наоборот, вода выходит из клетки в раствор с более высоким потенциальным осмотическим давлением.

Химический потенциал воды и водный потенциал клетки

При термодинамической трактовке сосущая сила заменяется водным потенциалом ψ_w . Водный потенциал можно определить как работу, необходимую для того, чтобы поднять потенциал связанной воды до потенциала чистой, то есть свободной, воды. Термин «водный потенциал» не совсем точен. Правильнее, но менее употребителен термин «разность потенциалов воды», поскольку он определяет разность химических потенциалов воды в системе μ_w (например в вакуоли) и чистой воды μ_{ow} при атмосферном давлении. Абсолютные значения μ_w и μ_{ow} неизвестны, но их разность можно определить. Она всегда отрицательна. Потенциал воды в растворе, растении, почве и атмосфере меньше нуля. Потенциал чистой воды равен нулю.

Можно также заменить π и P на потенциалы, а именно на осмотический потенциал ψ_π (отрицательный) и потенциал давления ψ_p (как правило, положительный). В таком случае осмотическое уравнение превращается в уравнение потенциала воды:

$$\psi_w = -\psi_\pi - \psi_p \text{ (размерность бар} = \text{эрг} \times \text{см}^{-3} \times 10^6 \text{)}.$$

Величину осмотического потенциала можно определить плазмолитическим методом. Плазмолиз – это процесс, обусловленный потерей воды клеткой. Он проявляется в отходе протопласта от клеточной стенки. При переносе плазмолизированных тканей в гипотонический раствор (или чистую воду) вода поступает в клетку и происходит деплазмолиз. Количество воды в клетке увеличивается, объем вакуоли возрастает – и она прижимает цитоплазму к клеточной стенке. Плазмолитический метод основан на подборе изоосмотического (изотонического) раствора, то есть имеющего осмотический потенциал, равный осмотическому потенциалу клетки. Раствор, при котором начался плазмолиз, имеет осмотический потенциал, примерно равный осмотическому потенциалу клетки. Зная концентрацию наружного раствора в молях, можно вычислить осмотический потенциал клетки.

Иногда при сильном завядании протопласт не отстает от клеточной стенки, как при плазмолизе, а сжимается и тянет ее за собой. При этом клеточная стенка прогибается. Это явление называют циторризом. Развивается натяжение (или отрицательное давление стенки) – и потенциал тургорного давления приобретает отрицательное значение. В этом случае величина водного потенциала определяется уже не разностью, а суммой осмотического потенциала и потенциала давления:

$$-\psi_w = -\psi_\pi + \psi_p.$$

Величина осмотического потенциала позволяет судить о способности растения поглощать воду из почвы и удерживать ее, несмотря на иссушающее действие атмосферы. Осмотический потенциал колеблется у разных растений в пределах от -5 до -200 баров. У водных растений осмотический потенциал около -1 бара. У большинства растений средней полосы осмотический потенциал колеблется от -5 до -30 баров, растения степей и пустынь имеют более отрицательный осмотический потенциал. Осмотический потенциал различен и у разных жизненных форм. У деревьев он отрицательнее, чем у кустарников и травянистых растений. У светолюбивых растений осмотический потенциал отрицательнее, чем у теневыносливых растений.

Поступление воды в клетку обусловлено не только осмотическим давлением, но и силой набухания. Набуханием называют поглощение жидкости или пара высокомолекулярным веществом (набухающим телом), сопровождаемое увеличением объема. Явление набухания обусловлено коллоидальными и капиллярными эффектами. В протоплазме преобладает набухание на коллоидальной основе (гидратация коллоидов), а в клеточной стенке наблюдаются оба эффекта: капиллярный – накопление воды между микрофибриллами и в межмембранных пространствах; коллоидальный – гидратация полисахаридов, особенно гемицеллюлоз. У некоторых частей растений поглощение воды происходит исключительно путем набухания, например у семян.

Благодаря большому сродству набухающего тела к воде при набухании может возникать давление набухания в несколько сотен атмосфер. Силу набухания обозначают термином «матричный потенциал» ψ_{τ} .

Таким образом, для клетки характерны следующие уравнения водного потенциала:

$$\text{вакуоль: } -\psi_w = -\psi_{\pi} - \psi_p;$$

$$\text{протоплазма: } -\psi_w = -\psi_{\pi} - \psi_p - \psi_{\tau};$$

$$\text{клеточная стенка: } -\psi_w = -\psi_{\tau}.$$

Вода в клетку может поступать также в процессе пиноцитоза, когда часть плазмалеммы прогибается внутрь клетки. Внешние края такой инвагинации смыкаются и в виде пузырька – везикулы с адсорбированными частицами и внешним раствором, – который проходит внутрь цитоплазмы.

Раздел 3. Водный режим растений

Лекция 3. Водный режим растений. Функции и формы воды в растениях

Значение воды для жизнедеятельности растений

Вода является одной из главных составных частей растений. Ее содержание неодинаково в разных органах растения (так, в листьях салата она составляет 95 %, а в сухих семенах – не более 10 % от массы ткани) и зависит от условий внешней среды, вида и возраста растения. Для своего нормального существования растение должно содержать определенное количество воды, в среднем 75–80 % массы растительной ткани.

Вода – это: 1) среда, в которой протекают процессы обмена веществ; 2) субстрат и продукт биохимических процессов (реакции гидролиза, окислительно-восстановительные реакции); 3) источник кислорода, выделяемого при фотосинтезе, и водорода, используемого для восстановления углекислого газа; 4) основа конформации молекул белка; 5) основа устойчивости структур цитоплазмы и оболочки клеток в упругом состоянии; 6) основа «тургорных» движений частей растений; 7) основа терморегуляции растительного организма.

Свойства воды, обеспечивающие ее функции в растительной клетке: 1) молекула воды представляет собой диполь; 2) благодаря этому молекулы воды могут ассоциировать друг с другом, ионами и белковыми молекулами; 3) вода участвует в поглощении и транспорте веществ, так как является хорошим растворителем; гидратные оболочки, окружающие ионы, ограничивают их взаимодействие; 4) вода обладает высокой теплоемкостью, равной 1 кал/град, что позволяет растению воспринимать изменения температуры окружающей среды в смягченном виде, испарение воды растениями, т. е. транспирация, служит основным средством терморегуляции у растений.

Формы воды в клетке

В клетках и тканях различают две формы воды: прочно связанную (связанную) и рыхло связанную (свободную).

Осмотически связанная вода гидратирует растворенные вещества – ионы и молекулы; коллоидносвязанная вода гидратирует коллоиды (макромолекулы); капиллярносвязанная вода связана со структурами клеточных стенок и сосудов за счет сил адгезии.

Связанная вода выполняет структурную функцию, поддерживая структуру коллоидов и обеспечивая функционирование ферментов, органоидов и клетки в целом. Она малоподвижна, не участвует в растворении и транспорте

веществ, отличается сниженной температурой замерзания и более высокой температурой кипения по сравнению со свободной водой.

Свободная вода обладает высокой подвижностью, является растворителем и основным транспортером веществ по растению.

Доля связанной воды в клетке составляет около 40 %, доля свободной – около 60 %. При недостатке влаги в первую очередь снижается доля свободной воды.

Корневая система как орган поглощения воды

Водный баланс растений складывается из поглощения, использования и потери воды. Корневая система является органом поглощения воды из почвы. Сформировавшаяся корневая система представляет собой сложный орган с хорошо дифференцированной структурой. Подсчитано, что общая поверхность корневой системы может превышать поверхность надземных органов более чем в 150 раз. Рост корневой системы и ее ветвление продолжают в течение всей жизни растения.

Поглощение воды и питательных веществ осуществляется в основном корневыми волосками ризодермы. Ризодерма – это однослойная ткань, покрывающая корень снаружи. У одних видов растений каждая клетка ризодермы формирует корневой волосок, у других она состоит из двух типов клеток: трихобластов, образующих корневые волоски, и атрихобластов, не способных к образованию волосков.

Из ризодермы вода попадает в клетки коры. У травянистых растений кора корня обычно представляет собой несколько слоев живых паренхимных клеток. Между клетками имеются крупные межклетники, обеспечивающие аэрацию корня. Через клетки коры возможны два пути транспорта воды и растворов минеральных солей: по симпласту и апопласту. Более быстрый транспорт воды происходит по апопласту.

Затем вода попадает в клетки эндодермы. Эндодерма – это внутренний слой клеток коры, граничащий с центральным цилиндром. Их клеточные стенки водонепроницаемы из-за отложения суберина и лигнина (пояски Каспари). Поэтому вода и соли проходят через клетки эндодермы по симпласту и транспорт воды в эндодерме замедляется. Это необходимо, так как диаметр стели (центрального цилиндра), куда попадает вода из эндодермы, меньше всасывающей поверхности корня.

Центральный цилиндр корня содержит перицикл, паренхимные клетки и две системы проводящих элементов: ксилему и флоэму. Клетки перицикла представляют собой одно- или многослойную обкладку проводящих сосудов. Его клетки регулируют транспорт веществ как из наружных слоев в ксилему, так и из флоэмы в кору. Кроме того, клетки перицикла выполняют функцию образовательной ткани, способной продуцировать боковые корни. Клетки перицикла и паренхимные клетки активно транспортируют ионы в проводящие элементы ксилемы. Контакт осуществляется через поры во вторичных

клеточных стенках сосудов и клеток. Между ними нет плазмодесм. Затем вода и растворенные вещества диффундируют в полость сосуда через первичную клеточную стенку. Для некоторых паренхимных клеток сосудистого пучка характерны выросты – лабиринты стенок, выстланные плазмалеммой, что значительно увеличивает ее площадь. Эти клетки активно участвуют в транспорте веществ в сосуды и обратно и называются передаточными, или переходными. Они могут граничить одновременно с сосудами ксилемы и ситовидными трубками флоэмы. По сосудам флоэмы транспортируются органические вещества из надземной части растения в корни.

**Корневое давление: значение, механизм и методы определения.
Гуттация и плач растений**

Вода пассивно диффундирует в сосуды ксилемы благодаря осмотическому механизму. Осмотически активными веществами в сосудах являются минеральные ионы и метаболиты, выделяемые насосами плазмалеммы паренхимных клеток, окружающих сосуды. Сосущая сила у сосудов выше, чем у окружающих клеток из-за повышающейся концентрации ксилемного сока и отсутствия значительного противодействия со стороны малоэластичных клеточных стенок. В результате поступления воды в сосуды ксилемы развивается гидростатическое давление, получившее название корневого давления. Оно участвует в поднятии ксилемного раствора по сосудам ксилемы из корня в надземную часть растения. Поднятие воды по растению вследствие развивающегося корневого давления называют нижним концевым двигателем.

Проявлением работы нижнего концевого двигателя (корневого давления) служат плач растений и гуттация. Весной у кустарников и деревьев с еще нераспустившимися листьями можно наблюдать интенсивный ксилемный ток снизу вверх через надрезы ствола и веток. У травянистых растений при отрезании стебля из пенька выделяется ксилемный сок, называемый пасоккой.

Поступление воды через корневую систему сокращается с понижением температуры. Это происходит по следующим причинам: 1) повышается вязкость воды, и поэтому снижается ее подвижность; 2) уменьшается проницаемость протоплазмы для воды; 3) тормозится рост корней; 4) уменьшается скорость метаболических процессов. Поступление воды снижается при ухудшении аэрации почвы. Это можно наблюдать, когда после сильного дождя почва залита водой, но при ярком солнце из-за сильного испарения растения завядают. Большое значение имеет концентрация почвенного раствора. Вода поступает в корень только тогда, когда водный потенциал корня меньше водного потенциала почвы. Если почвенный раствор имеет более отрицательный потенциал, вода будет не поступать в корень, а выходить из него.

Формы воды в почве. Водные характеристики почвы

По степени доступности для растения различают следующие формы почвенной влаги. Гравитационная вода заполняет промежутки между частицами почвы и хорошо доступна растениям. Однако она быстро испаряется и легко стекает в нижние горизонты почвы под влиянием силы тяжести, вследствие чего бывает в почве лишь после дождей. Капиллярная вода заполняет капилляры в почвенных частицах. Эта вода хорошо доступна для растений, она удерживается в капиллярах силами поверхностного натяжения и поэтому не только не стекает вниз, но и поднимается вверх от грунтовых вод. Пленочная вода окружает коллоидные частицы почвы. Вода из периферических слоев гидратационных оболочек может поглощаться корнями. Гигроскопическая вода адсорбируется сухой почвой при помещении ее в атмосферу с 95 %-ной относительной влажностью. Этот тонкий слой молекул воды удерживается с такой силой, что их водный потенциал достигает 1000 баров и она недоступна для растений.

Способность почвы удерживать воду зависит от ее состава и свойств. Для характеристики максимального запаса почвенной влаги используют понятие «полная полевая влагемкость» (или «полевая влагемкость»). Количественно этот параметр отражает количество воды (выраженное в процентах), которое способны поглотить и удержать 100 граммов почвы. Чем больше в почве минеральных (глинистых) и органических (гумуса) частиц, тем выше значение полевой влагемкости. Так как для нормальной жизнедеятельности корневой системы необходимо некоторое количество кислорода почвенного воздуха, оптимальной для большинства растений считается влажность почвы, равная 60% от полной полевой влагемкости.

Физиологическая засуха и ее причины. Коэффициент завядания

Количество почвенной воды в процентах, при котором растение впадает в устойчивое завядание, называют коэффициентом, или влажностью, завядания. Завядание растений разных видов может начинаться при одной и той же влажности, но промежуток времени от завядания растения до его гибели (интервал завядания) у растений может быть различным. Так, для растений бобов он составляет несколько суток, а для растений проса – несколько недель. Завядание начинается позже у растений с более отрицательным осмотическим потенциалом и меньшей скоростью транспирации.

«Мертвый запас» влаги в почве – это количество воды, полностью недоступной растению. Он зависит от механического состава почвы. Чем больше глинистых частиц в почве, тем больше «мертвый запас» влаги. Количество доступной для растения воды представляет собой разность между полевой влагемкостью (максимальное количество воды, удерживаемое почвой) и «мертвым запасом».

Лекция 4. Поглощение. Транспорт воды. Транспирация. Экология водного режима

Механизмы передвижения воды по растению. Теория сцепления

Восходящий поток воды в растении идет по сосудам ксилемы, лишенным цитоплазмы. Помимо работы нижнего концевой двигателя и присасывающего действия транспирации (верхний концевой двигатель) в передвижении воды по капиллярным сосудам ксилемы участвуют силы сцепления (когезии) молекул воды друг с другом и силы прилипания (адгезии) воды к стенкам сосудов. Обе силы препятствуют также образованию пузырьков воздуха, способных закупорить сосуд. Скорость передвижения воды по ксилеме равна 12–14 м/ч.

Большая часть воды, попавшей в листья, испаряется в атмосферу, а меньшая часть (около 0,2 %) используется в метаболизме клеток на поддержание тургора и в транспорте органических соединений по сосудам флоэмы.

Вода из клеток листа и непосредственно из сосудов ксилемы поступает во флоэмные окончания по осмотическому градиенту, возникающему вследствие накопления в клетках флоэмы сахаров и других органических соединений, которые образуются в клетках листьев и переносятся в клетки флоэмы в результате активной работы транспортных насосов. Нисходящий флоэмный ток доставляет органические соединения тканям корня, где они используются в метаболизме. В корне окончания проводящих пучков флоэмы, как и в листе, располагаются вблизи элементов ксилемы, и вода по осмотическому градиенту поступает в ксилему и движется вверх с восходящим током. Таким образом, происходит обмен воды в проводящей системе корня и листьев.

Транспирация: ее формы и физиологическое значение

Транспирация – это физиологический процесс испарения воды растением. Основным органом транспирации является лист. Вода испаряется с поверхности листьев через клеточные стенки эпидермальных клеток и покровные слои (кутикулярная транспирация) и через устьица (устьичная транспирация).

Эпидермис листьев растений – первичная поверхностная однослойная ткань – выполняет важную роль в осуществлении процессов водо- и газообмена. Клетки эпидермиса покрыты на поверхности кутикулой, часто восковым налетом, живыми или отмершими волосками (исполняют роль экрана, отражающего часть солнечных лучей). Эпидермис защищает внутренние ткани растений от иссушения, механических повреждений, проникновения инфекции, через систему устьиц регулирует газообмен и транспирацию растения.

В результате потери воды в ходе транспирации в клетках листьев возрастает сосущая сила. Это приводит к усилению поглощения клетками листа воды из сосудов ксилемы и передвижению воды по ксилеме из корней в листья. Таким образом, верхний концевой двигатель, участвующий в транспорте воды вверх по растению, обусловлен транспирацией листьев. Верхний концевой двигатель может работать при полном отключении нижнего концевого двигателя, причем для его работы используется не только метаболическая энергия, как в корне, но и энергия внешней среды (температура и движение воздуха).

Транспирация спасает растение от перегрева. Температура сильно транспирирующего листа может примерно на 7 °С быть ниже температуры нетранспирирующего завядшего листа. Кроме того, транспирация участвует в создании непрерывного тока воды с растворенными минеральными и органическими соединениями из корневой системы к надземным органам растения.

Величина транспирации зависит от числа устьиц, их размещения, степени открытости, строения эпидермиса, степени развития проводящей системы, величины осмотического давления клеточного сока, насыщенности протоплазмы водой, а также от интенсивности освещения, температуры, влажности воздуха, силы ветра и от содержания в почве азота и др. элементов питания.

Количественные показатели транспирации

Интенсивность транспирации – это количество, г, воды, испаряемой растением в единицу времени (ч) с единицы поверхности (дм²). Эта величина колеблется от 0,15 до 1,5. Иногда расчёт ведут на 1 г сухой или сырой массы в 1 час. При определении абсолютной величины транспирации рассчитывают площадь листовой поверхности растений на 1 м² площади, учитывая и площадь поверхности листа. Отношение количества воды, испаряемой с единицы поверхности, к единице свободной поверхности воды называется относительной транспирацией; в оптимальных условиях водоснабжения она равна 0,7–0,85. При определении продукционных характеристик рассчитывают количество воды, израсходованной растением за весь вегетационный период, и относят его к сухой массе всего растения.

Транспирационный коэффициент – это количество воды (г), расходуемой растением на образование 1 г сухого вещества. Этот параметр зависит от климатических и почвенных условий и от вида растений (например у просовидных злаков он относительно низок). Транспирационный коэффициент разных растений варьируется от 200 до 1000 и более. Зная его величину, можно приблизительно вычислять поливные нормы для орошаемых культур в разных почвенно-климатических условиях и рационализировать приёмы орошения. Транспирационный коэффициент уменьшается с улучшением условий питания, увлажнения, с повышением плодородия почвы и уровня агро-

техники. Величину, обратную транспирационному коэффициенту, называют продуктивностью транспирации.

Продуктивность транспирации – количество, г, сухого вещества, накопленного растением за период, когда оно испаряет 1 кг воды.

Относительная транспирация – это отношение воды, испаряемой листом, к воде, испаряемой со свободной водной поверхности той же площади за один и тот же период времени.

Экономичность транспирации – это количество (мг) испаряемой воды на 1 кг воды, содержащейся в растении.

У растений одного вида в сходных условиях количество испаряемой воды тем выше, чем больше листовая поверхность. Так, с 1 га посева пшеницы выделяется около 2 тыс. т воды, 3,2 тыс. т кукурузы, 8 тыс. т капусты.

Основными методами определения интенсивности транспирации отдельных листьев и небольших растений являются весовой и потометрический. Для определения транспирационных характеристик ценозов применяют методы локального определения количества испаряемой влаги участком кроны или посева и последующую экстраполяцию.

Кутикулярная транспирация

Кутикулярная транспирация. Снаружи листья имеют однослойный эпидермис, внешние стенки клеток которого покрыты кутикулой и воском, образующими эффективный барьер на пути движения воды. Кутикула состоит из кутина – бесструктурного образования, лишённого корпускулярных и фибриллярных элементов; устойчива к химическим воздействиям. Она отсутствует на погруженных в воду органах водных растений, слабо развита у растений, обитающих в тени и на сырой почве, а особенно хорошо – у растений, нуждающихся в ограничении транспирации. Гладкая и блестящая кутикула листьев тропических растений отражает часть солнечных лучей и служит защитой от чрезмерной инсоляции. У большинства ксерофитов в кутикулярном слое откладываются бледно-жёлтые пигменты, обеспечивающие непроницаемость клеточной стенки для ультрафиолетовых лучей.

Интенсивность кутикулярной транспирации варьируется у разных видов растений. У молодых листьев с тонкой кутикулой она может составлять около половины всей транспирации. У зрелых листьев с более мощной кутикулой кутикулярная транспирация равна 1/10 общей транспирации. В стареющих листьях из-за повреждения кутикулы она может возрастать.

Таким образом, кутикулярная транспирация регулируется главным образом толщиной и целостностью кутикулы и других защитных покровных слоев на поверхности листьев.

Устьичная транспирация и механизм ее регулирования

Устьица представляют собой щель в подустьичную полость, окаймленную двумя замыкающими клетками серповидной формы. Стенки замыкающих клеток, обращенные к щели, образуют утолщения. Противоположные стенки тонкие. Устьичная щель ведёт в обширный межклетник – подустьичную полость. Устьице нередко бывает окружено двумя или несколькими прилегающими клетками, отличающимися по форме от основной массы клеток эпидермиса. В основе устьичных движений лежит обратимое изменение тургора замыкающих клеток. Тонкие участки их стенок с повышением тургора растягиваются и вытягиваются в направлении от устьичной щели.

В этом же направлении выгибаются и стенки, обращенные к щели. Ширина щели увеличивается – и устьице открывается. С понижением тургора замыкающих клеток устьице закрывается. Устьица играют важную роль в газообмене между листом и атмосферой, так как являются основным путем для водяного пара, углекислого газа и кислорода. Устьица находятся на обеих сторонах листа. Есть виды растений, у которых устьица располагаются только на нижней стороне листа. В среднем число устьиц колеблется от 50 до 500 на 1 мм². Транспирация через устьица идет почти с такой же скоростью, как и с поверхности чистой воды. Это объясняется законом И. Стефана: через малые отверстия скорость диффузии газов пропорциональна не площади отверстия, а диаметру или длине окружности. Поэтому хотя площадь устьичных отверстий мала по сравнению с площадью всего листа (0,5–2 %), испарение воды через устьица идет очень интенсивно.

Транспирация складывается из двух процессов: 1) передвижение воды в листе из сосудов ксилемы по симпласту и преимущественно по клеточным стенкам, так как в стенках транспорт воды встречает меньшее сопротивление; 2) испарение воды из клеточных стенок в межклетники и подустьичные полости с последующей диффузией в окружающую атмосферу через устьичные щели. Чем меньше относительная влажность атмосферного воздуха, тем ниже его водный потенциал. Если водный потенциал воздуха меньше водного потенциала подустьичных полостей, то молекулы воды испаряются наружу.

Основным фактором, влияющим на открывание и закрывание устьиц, является содержание воды в листе, в том числе и в замыкающих клетках устьиц. Высокая оводненность замыкающих клеток приводит к открыванию устьиц. При недостатке воды замыкающие клетки выпрямляются – и устьичная щель закрывается. Кроме того, по мере увеличения водного дефицита в тканях растения повышается концентрация ингибитора роста абсцизовой кислоты. Она подавляет деятельность H⁺-насосов в плазмалемме замыкающих клеток, которые участвуют в H⁺/K⁺ обмене, вследствие чего снижается их тургор и устьица закрываются. Абсцизовая кислота также ингибирует синтез фермента α-амилазы, что приводит к снижению гидролиза крахмала, поэтому сосущая сила замыкающих клеток уменьшается – и устьица закрываются.

Так как замыкающие клетки устьиц содержат хлоропласты, синтез углеводов в процессе фотосинтеза в замыкающих клетках увеличивает их соcущую силу и вызывает поглощение воды, способствуя этим открыванию устьиц.

При снижении концентрации CO_2 в подустыичной полости ниже 0,03 %, тургор замыкающих клеток увеличивается – и устьица открываются. Повышение концентрации CO_2 в воздухе вызывает закрытие устьиц. Это происходит в межклетниках листа ночью, когда в условиях отсутствия фотосинтеза и продолжающегося дыхания уровень углекислого газа в тканях повышается. Становится ясно, почему ночью устьица закрыты и открываются с восходом солнца. Сдвиг pH в щелочную сторону вследствие уменьшения концентрации CO_2 увеличивает активность ферментов, участвующих в распаде крахмала, тогда как при кислом pH при повышении содержания CO_2 в межклетниках повышается активность ферментов, катализирующих синтез крахмала.

На свету замыкающие клетки устьиц содержат значительно больше калия, чем в темноте. При открывании устьиц содержание калия в замыкающих клетках увеличивается в 4 раза (при одновременном снижении его содержания в сопутствующих клетках). Установлено повышение содержания АТФ в замыкающих клетках устьиц в процессе их открывания. АТФ, образованная в процессе фотосинтетического фосфорилирования в замыкающих клетках, используется для усиления поступления калия. Усиленное поступление ионов калия повышает соcущую силу замыкающих клеток. В темноте ионы калия выделяются из замыкающих клеток, устьица закрываются.

Периодичность суточного хода транспирации наблюдается у многих растений, но у разных видов растений устьица функционируют неодинаково. У деревьев, теневыносливых растений, многих злаков и других гидролабильных видов с совершенной регуляцией устьичной транспирации испарение воды начинается на рассвете, достигает максимума в утренние часы. полдень транспирация снижается и вновь увеличивается в предвечерние часы при снижении температуры воздуха. Такой ход транспирации приводит к незначительным суточным изменениям осмотического давления и содержания воды в листьях. У видов растений, способных переносить резкие изменения содержания воды в клетках в течение дня, то есть у гидролабильных видов, наблюдается одновершинный суточный ход транспирации с максимумом в полуденные часы. В обоих случаях ночью транспирация минимальна или полностью прекращается.

Ночью у большинства растений устьица закрыты и газообмен и транспирация минимальны. В светлый период суток при благоприятных погодных условиях устьичные щели находятся в открытом состоянии. Через открытые устьица углекислый газ легко проникает во внутренние ткани растения, а кислород, образовавшийся в процессе фотосинтеза, а также пары воды выделяются в атмосферу.

Особенности водного обмена у растений разных экологических групп

Гидрофиты (гидратофиты) – растения, обитающие в воде. Они погружены в воду полностью или частично, регулируют постоянство состава внутренней среды с помощью механизмов защиты от избыточного поступления воды. У монадных форм зеленых водорослей, заселяющих в основном пресные воды, клеточные стенки замкнуты не полностью (из-за наличия выростов цитоплазмы – жгутиков, с помощью которых они передвигаются). У всех монадных форм имеются пульсирующие вакуоли, посредством которых из клеток удаляются избыток воды и отходы жизнедеятельности. У гидрофитов с замкнутой клеточной стенкой ее противодействия достаточно для предотвращения поступления излишков воды в клетку. Первичными гидрофитами являются водоросли. Водные цветковые растения – это вторичные гидрофиты, происходящие от наземных форм.

По способности приспосабливать водный обмен к колебаниям водоснабжения различают две группы наземных растений: пойкилогидрические и гомойгидрические.

Пойкилогидрические организмы (бактерии, синезеленые водоросли, низшие зеленые водоросли, грибы, лишайники и др.) приспособились переносить значительный недостаток воды без потери жизнеспособности. При этом у них снижается интенсивность обмена веществ, клетки равномерно сжимаются. Протопласт их клеток при сильном обезвоживании переходит в состояние геля. Увеличение количества воды в среде приводит к возобновлению активного метаболизма в клетках. По характеру изменения таких показателей водного режима, как интенсивность транспирации, осмотическое давление, содержание воды, в течение суток они относятся к гидролабильным растениям, так как у них значительно изменяются содержание воды и испарение.

Гомойгидрические растения (наземные папоротникообразные, голосеменные, цветковые) составляют большинство обитателей суши. Они обладают механизмами регуляции устьичной транспирации, а также корневой системой, обеспечивающей доставку воды. Поэтому даже при значительных изменениях влажности среды у этих растений не наблюдается резких колебаний содержания воды в клетках, в которых, как правило, развита вакуолярная система. Их клетки не способны к обратимому высыханию. У этих растений – гидростабильный тип водного режима. Стабилизации водного режима у многих видов растений способствуют запасы воды в корнях, стеблях и запасующих органах. Гомойгидрические растения делятся на три экологические группы:

гигрофиты (тонколистные папоротники, некоторые фиалки и другие), произрастающие в условиях повышенной влажности и недостаточной освещенности. Теневыносливые гигрофиты с почти всегда открытыми устьицами имеют гидатоды, через которые выделяют избыток воды в капельножидком состоянии. Гигрофиты плохо переносят почвенную и воздушную засуху;

мезофиты (лиственные деревья, лесные и луговые травы, большинство культурных растений), которые обитают в среде со средним уровнем обеспе-

ченности водой и не имеют ясно выраженных приспособлений к избытку или недостатку воды;

ксерофиты, живущие в местах с жарким и сухим климатом и приспособленные к атмосферной и почвенной засухе. Ксерофиты делят на четыре группы.

Первые – избегающие засухи (эфемеры и эфемероиды). Эти растения обладают коротким вегетационным периодом, приурочивая весь жизненный цикл к периоду дождей; засуху они переносят в форме семян. Эфемеры – это однолетники, срок жизни которых (от всходов до вызревания семян) сокращен до продолжительности влажного сезона в пустыне. Они очень быстро развиваются с началом дождей, быстро отцветают и завязывают плоды. С наступлением засухи они полностью отмирают, оставляя для воспроизводства жаростойкие семена. Некоторые виды эфемеров сократили продолжительность своего жизненного цикла до полутора месяцев. Среди эфемеров преобладают мезофиты.

Эфемероиды – многолетние растения. Подобно эфемерам, они развиваются только во влажный сезон года. Однако с наступлением сухого сезона они, в отличие от эфемеров, отмирают не полностью, а лишь сбрасывают фотосинтезирующие органы (листья или безлистные однолетние побеги).

Многолетние органы являются одновременно и запасующими органами эфемероидов, накапливающими воду и питательные вещества. Во внутропических пустынях с морозными зимами это, как правило, подземные органы: клубни, луковицы, корневища. В тропических пустынях многолетние органы могут быть и надземными, в том числе луковицы, каудексы и древесные стволы (например хоризии, баобабы и др.). Но во всех случаях отмирают ассимилирующие органы, листья или заменяющие их молодые зеленые побеги.

Вторая группа – растения, запасующие влагу (ложные ксерофиты). К этой группе растений относятся суккуленты (кактусы и растения семейства толстянковых). Эти растения живут в районах, где засушливые периоды сменяются периодами дождей. Они имеют толстые и мясистые стебли. Листья часто редуцированы, вся поверхность растений покрыта толстым слоем кутикулы, что существенно снижает их транспирацию. Суккуленты обладают неглубокой, но широко распространяющейся корневой системой.

Клетки корня характеризуются сравнительно низкой концентрацией клеточного сока. Вода, запасаемая в мясистых органах, тратится очень медленно. Суккуленты обладают своеобразным обменом веществ. Днем их устьица закрыты, а ночью открываются, что обеспечивает снижение расхода воды в процессе транспирации. Для суккулентов характерен САМ-тип фотосинтеза. Углекислый газ поступает через устьица ночью и усваивается с образованием органических кислот. В дневные часы углекислый газ вновь освобождается и используется в процессе фотосинтеза. Поэтому эти растения фотосинтезируют при устьицах, закрытых днем. Растения этой группы не устойчивы к длительному водному стрессу.

Третья группа – гемиксерофиты, или полуксерофиты. Это растения, у которых сильно развиты приспособления к добыче воды. У них глубоко идущая, сильно разветвленная корневая система. Клетки корня обладают вы-

сокой концентрацией клеточного сока и очень отрицательным водным потенциалом. Растения этой группы обладают хорошо развитой проводящей системой. Листья у них тонкие, с очень густой сетью жилок, что сокращает путь передвижения воды к клеткам листьев. Даже в очень жаркие дни они держат устьица открытыми. Благодаря высокой интенсивности транспирации температура листьев значительно понижается, что позволяет осуществлять фотосинтез при высокой температуре воздуха. Листья некоторых растений покрыты волосками, которые создают «экран», дополнительно защищающий листья от перегрева.

Четвертая группа – эуксерофиты, или настоящие ксерофиты. Это растения, обладающие способностью резко сокращать транспирацию в условиях недостатка воды. Они имеют приспособления к сокращению потерь воды (подземные органы). Иногда и стебли покрыты толстым слоем пробки, листья – толстым слоем кутикулы. Многие имеют волоски. Устьица расположены в углублениях, устьичные щели закупорены восковыми и смолистыми пробочками, листья свернуты в трубочку, где создается свой микроклимат и уменьшается контакт устьичных щелей с атмосферой. Для растений этой группы характерна способность переносить обезвоживание и состояние длительного завядания. Особенно хорошо переносят потерю воды растения с жесткими листьями (склерофиты), которые и в состоянии тургора имеют сравнительно мало воды. Эти растения характеризуются большим развитием механических тканей и распространяют свои корни в глубине почвы, там, где в течение всего года сохраняется хотя бы минимальное количество доступной им влаги.

Роль растений в круговороте воды в биосфере

Воды планеты, нагреваемые солнцем, испаряются. выпадающая живительным дождем влага возвращается обратно в океан в качестве речных вод или очищенных фильтрацией грунтовых вод, перенося огромное количество неорганических и органических соединений. Живые организмы активно участвуют в круговороте воды, являясь необходимым компонентом процессов метаболизма. На суше большая часть воды испаряется растениями, уменьшая водосток и препятствуя эрозии почвы. Поэтому при вырубке лесов поверхностный сток увеличивается сразу в несколько раз и вызывает интенсивный размыв почвенного покрова. Лес замедляет таяние снега – и талая вода, постепенно стекая, хорошо увлажняет поля. Уровень грунтовых вод повышается, а весенние наводнения редко бывают разрушительными.

Влажные тропические леса смягчают жаркий экваториальный климат, задерживая и постепенно испаряя воду (это явление называют транспирацией). Вырубка тропических лесов вызывает в близлежащих районах катастрофические засухи. Хищническое уничтожение лесов способно превратить в пустыни целые страны, как это уже случилось в Северной Африке. Круговорот воды, регулируемый растительностью, – важнейшее условие поддержания жизни на Земле.

Раздел 4. Минеральное питание растений

Лекция 5. Минеральное питание. Роль минеральных элементов

Роль растений в круговороте минеральных элементов в биосфере

В процессе жизнедеятельности растения, являясь автотрофными организмами, поглощают минеральные элементы в форме неорганических соединений, ассимилируют их, включая в состав органических веществ. Продуцируемые ими органические вещества распространяются в экосистемах по цепям питания. Органические остатки в море и на суше минерализуются редуцентами. В течение 6–8 лет живые существа пропускают через себя весь углерод атмосферы. Примеры: круговороты углерода, азота, серы, фосфора.

Потребность растений в элементах минерального питания

Биогенные элементы – это химические элементы, постоянно входящие в состав организмов и имеющие определённое биологическое значение. Прежде всего это кислород, составляющий 70 % всей массы организмов, углерод (18 %), водород (10 %), кальций, азот, калий, фосфор, магний, сера, хлор, натрий, железо и др. В пересчете на сухую массу организмы содержат по 45 % углерода и кислорода, 6 % – водорода, 4% – остальных минеральных элементов. Эти элементы входят в состав всех живых организмов, составляют их основную массу и играют большую роль в процессах жизнедеятельности.

Успехи аналитической химии и спектрального анализа расширили перечень биогенных элементов. Ученые находят всё новые элементы, входящие в состав организмов в малых количествах (микроэлементы), и открывают биологическую роль многих из них. В. И. Вернадский считал, что все химические элементы, постоянно присутствующие в клетках и тканях организмов, в естественных условиях играют определенную физиологическую роль. Многие элементы имеют большое значение только для определённых групп живых существ (например, бор необходим для растений, ванадий – для асцидий и т.п.). Содержание тех или иных элементов в организмах зависит не только от их видовых особенностей, но и от состава среды, пищи (в частности, для растений – от концентрации и растворимости тех или иных почвенных солей), экологических особенностей организма и других факторов.

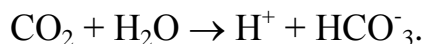
Содержание и соотношение минеральных элементов в почве и в растениях и факторы, их определяющие

Растения получают углерод и кислород преимущественно из воздуха, а остальные элементы – из почвы. Элементы минерального питания – это химические элементы, которые необходимы растению и не могут быть заменены

ны никакими другими. Элементы минерального питания содержатся в почве в четырех формах: прочно фиксированные и недоступные для растения (например, ионы калия и аммония в некоторых глинистых минералах); трудно-растворимые неорганические соли (сульфаты, фосфаты, карбонаты) и в такой форме недоступные для растения; адсорбированные на поверхности коллоидов, доступные для растений благодаря ионному обмену на выделяемые растением ионы; растворенные в воде и поэтому легкодоступные для растений.

Ионы поступают в клетки ризодермы либо из почвенного раствора, либо за счет контактного обмена H^+ , HCO_3^- и анионов органических кислот, адсорбированных на клеточных стенках корневых волосков, на ионы минеральных веществ почвенных частиц.

Выделяя различные вещества (углекислый газ, аминокислоты, сахара и др.), корневая система увеличивает доступность минеральных элементов для растения непосредственно в прикорневой зоне (например путем выделения CO_2):



Повышение растворимости фосфатов и (карбонатов) косвенно создает благоприятные условия для микрофлоры ризосферы, которая играет большую роль в превращении почвенных минералов.

Классификации элементов, необходимых для растений

Растения способны поглощать из окружающей среды практически все элементы. Однако для нормальной жизнедеятельности растительному организму необходимы лишь 19 питательных элементов. Среди них – углерод (около 45 % сухой массы тканей), кислород (45%), водород (6%) и азот (1,5 %). Их называют органогенами. Несколько процентов приходится на зольные элементы, которые остаются в золе после сжигания растения. Содержание минеральных элементов обычно выражают в процентах от массы сухого вещества.

Все минеральные элементы, в зависимости от их количественного содержания в растении, принято делить на макроэлементы, содержание которых – более 0,01 % от сухой массы (к ним относятся азот, фосфор, сера, калий, кальций, магний), и микроэлементы, содержание которых – менее 0,01 % (железо, марганец, медь, цинк, бор, молибден, кобальт, хлор). Ю. Либихом было установлено, что все перечисленные элементы равнозначны и полное исключение любого из них приводит растение к глубокому страданию и гибели. Ни один из перечисленных элементов не может быть заменен другим, даже близким по химическим свойствам. Макроэлементы при концентрации 200-300 мг/л в питательном растворе еще не оказывают вредного действия на растение. Большинство микроэлементов при концентрации 0,1–0,5 мг/л угнетают рост растений.

Основные функции элементов в метаболизме: структурная и каталитическая (регуляторная).

Особенностями минерального обмена растений являются следующие:

избирательное накопление элементов в тканях растений в значительно больших концентрациях, чем в окружающей среде;

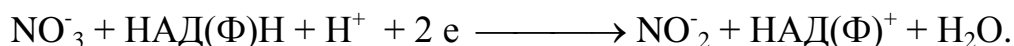
видовая специфичность в потребности, накоплении и распределении элементов по органам у разных растений.

Физиологическая роль макро- и микроэлементов

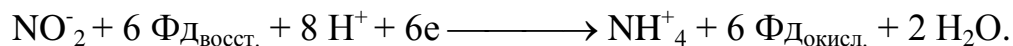
Макроэлементы

Азот входит в состав белков, нуклеиновых кислот, пигментов, коферментов, фитогормонов и витаминов. В почве от 0,5 до 2 % почвенного азота доступно растениям в форме NO_3^- и NH_4^+ -ионов. Запасы азота в почве могут пополняться разными путями: внесение в почву минеральных и органических азотных удобрений; азотфиксация молекулярного азота атмосферы специализированными группами микроорганизмов; минерализация почвенными бактериями органического азота растительных и животных остатков.

Следует подчеркнуть, что растения являются автотрофами не только по углероду, но и по минеральным элементам, в том числе и по азоту (что отличает питание растительных организмов от животных). В органические соединения азот включается в восстановленной форме; поэтому ионы нитрата, поглощенные растением, восстанавливаются в клетках до аммиака. Редукция нитрата в растениях осуществляется в два этапа. Сначала происходит восстановление нитрата до нитрита, сопряженное с переносом двух электронов и катализируемое ферментом нитратредуктазой:



Нитриты, образующиеся на первом этапе редукции нитратов, быстро восстанавливаются до аммиака ферментом нитритредуктазой. Она в качестве донора электронов использует восстановленный ферредоксин:



Обе эти реакции происходят в листьях и корнях. В зеленых частях растения нитритредуктаза локализована в хлоропластах. Восстановитель ферредоксин получает электроны прямо из фотосинтетической электрон-транспортной цепи. В корнях нитрит восстанавливается в пропластидах. Так как в корнях ферредоксин отсутствует, то источником электронов служит НАДФН, образующийся в пентозофосфатном пути дыхания.

Аммиак, поступивший в растение из почвы, образовавшийся при восстановлении нитратов, усваивается растениями с образованием аминокислот и амидов. Фермент глутаматдегидрогеназа катализирует восстановительное аминирование α -кетоглутаровой кислоты с образованием глутаминовой ки-

слоты. На первом этапе реакции субстраты соединяются с образованием иминокислоты, которая затем восстанавливается в глютаминую кислоту при участии НАД(Ф)Н.

Глютаминсинтетаза катализирует реакцию, в которой глютаминовая кислота функционирует как акцептор NH_3 для образования амида глютамина.

Для этой реакции необходима АТФ. Ионы марганца, кобальта, кальция и магния являются кофакторами глютаминсинтетазы. Фермент обнаружен во всех органах растений и локализован в цитоплазме. Этот путь у большинства растений является основным.

Глютамин и аспарагин, наряду с глутаматом, являются транспортными формами ассимилированного азота в растениях.

Фосфор. Растения поглощают из почвы свободную ортофосфорную кислоту и ее двух- и однозамещенные соли, растворимые в воде, а также и некоторые органические соединения фосфора, такие, как фосфаты сахаров и фитин.

Содержание фосфора в растениях составляет около 0,2 % на сухую массу. Фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, нуклеотидов, фосфолипидов и витаминов. Многие фосфорсодержащие витамины и их производные являются коферментами. Для фосфора характерна способность к образованию химических макроэргических связей с высоким энергетическим потенциалом (АТФ и др.). Фосфорилирование, то есть присоединение остатка фосфорной кислоты, активирует клеточные белки и углеводы и необходимо для таких процессов, как дыхание, синтез РНК и белка, деление и дифференцировка клеток, защитные реакции против патогенов и т.д.

Основной запасной формой фосфора у растений является фитин – кальций-магниевая соль инозитфосфорной кислоты. Содержание фитина в семенах достигает 2 % от сухой массы, что составляет 50 % от общего содержания фосфора.

Сера. В почве находится в органической и неорганической формах. Органическая сера входит в состав растительных и животных остатков. Основные неорганические соединения серы в почве – сульфаты (CaSO_4 , MgSO_4 , Na_2SO_4). В затопляемых почвах сера находится в восстановленной форме в виде FeS , FeS_2 или H_2S .

Растения поглощают из почвы сульфаты и в очень незначительных количествах серосодержащие аминокислоты. Содержание серы в растениях составляет около 0,2 %. Однако в растениях семейства крестоцветных ее содержание значительно выше. Сера содержится в растениях в двух основных формах: окисленной (в виде неорганического сульфата) и восстановленной (аминокислоты, глутатион, белки). Процесс восстановления сульфата происходит в хлоропластах. Восстановление сульфатов – проявление автотрофного типа питания растений; у гетеротрофов не обнаружен.

Одна из основных функций серы в белках – это участие SH-группы в образовании ковалентных, водородных и меркаптидных связей, поддерживающих трехмерную структуру белка. Дисульфидные мостики между полипептидными цепями и двумя участками одной цепи (по типу S-S-мостика в

молекуле цистеина) стабилизируют молекулу белка. Сера входит в состав важнейших аминокислот – цистеина и метионина, – которые могут находиться в растениях в свободной форме или в составе белков. Метионин относится к числу 10 незаменимых аминокислот и благодаря наличию серы и метильной группы обладает уникальными свойствами и входит в состав активных центров многих ферментов. Сера входит в состав многих витаминов и коферментов, таких, как биотин, коэнзим А, глутатион, липоевая кислота.

Калий поглощается растениями в виде катиона. Его содержание в растениях составляет в среднем 0,9 %. Концентрация калия высока в огурцах, томатах и капусте, но особенно много его в подсолнечнике. В растениях калий больше сосредоточен в молодых, растущих тканях. Около 80 % калия содержится в вакуолях и 1 % калия прочно связан с белками митохондрий и хлоропластов. Калий стабилизирует структуру этих органелл.

Калию принадлежит исключительная роль в поддержании гомеостаза клетки – регуляции осмотического давления, трансмембранного потенциала, равновесия зарядов, катионно-анионного баланса, pH и т.д. Свойство нетоксичности высоких концентраций ионов калия (в отличие от натрия) является определяющим в выполнении его функций в растительной клетке.

Калий в значительной мере определяет коллоидные свойства цитоплазмы, так как способствует поддержанию состояния гидратации коллоидов цитоплазмы, повышая ее водоудерживающую способность. Тем самым калий увеличивает устойчивость растений к засухе и морозу.

Калий участвует в создании разности электрических потенциалов между клетками. Он нейтрализует отрицательные заряды неорганических и органических анионов. Калий необходим для работы устьичного аппарата. Известны более 60 ферментов, активируемых калием. Он необходим для включения фосфата в органические соединения, реакций переноса фосфатных групп, синтеза рибофлавина – компонента всех флавиновых дегидрогеназ. Под влиянием калия увеличивается накопление крахмала в клубнях картофеля, сахарозы – в сахарной свекле, целлюлозы, гемицеллюлоз и пектиновых веществ – в клеточных стенках различных растений.

Кальций. В почве содержится много кальция, и кальциевое голодание встречается редко, например при сильной кислотности или засоленности почв и на торфяниках. Общее содержание кальция у разных видов растений составляет 5–30 мг на 1 г сухой массы. Много кальция содержат бобовые, гречиха, подсолнечник, картофель, капуста, гораздо меньше – зерновые, лен, сахарная свекла. В тканях двудольных растений кальция больше, чем однодольных. Кальций накапливается в старых органах и тканях.

Это связано с тем, что реутилизация кальция затруднена, так как он из цитоплазмы переходит в вакуоль и откладывается в виде нерастворимых солей щавелевой, лимонной и других кислот. В растениях имеется два запасных пула ионов кальция: внеклеточный (апопластный) и внутриклеточный в вакуоли и эндоплазматическом ретикулуме. Большое количество кальция связано с пектиновыми веществами срединной пластинки и клеточной стенки. Он содержится также в хлоропластах, митохондриях и ядре в комплексах

с биополимерами в виде неорганических фосфатов и в форме иона.

Взаимодействуя с отрицательно заряженными группами фосфолипидов, кальций стабилизирует клеточные мембраны. При недостатке кальция увеличивается проницаемость мембран и нарушается их целостность. Недостаток кальция приводит к нарушению формирования клеточных мембран и клеточных стенок при делении клеток.

Регулирующее действие кальция на многие стороны метаболизма определяется его взаимодействием с внутриклеточным рецептором кальция – белком кальмодулином. Это кислый с изоэлектрической точкой при pH 3,0–4,3 термостабильный низкомолекулярный (мол. масса 16,7 кДа) белок. Он обладает большим сродством к кальцию. Его комплекс с кальцием активирует многие ферменты, например протеинкиназы (фосфорилирование белков), фосфоэстеразу, транспортную Ca^{2+} -АТФазу и др. Кальмодулин может связываться с мембранами в клетке и легко переходит в цитозоль. Влиянием кальция на сборку и разборку элементов цитоскелета объясняется его необходимость для митоза, так как комплекс кальция с кальмодулином регулирует сборку микротрубочек веретена. Кальций участвует в слиянии везикул Гольджи при формировании новой клеточной стенки.

Магний. Недостаток в магнии растения испытывают на песчаных и подзолистых почвах. Много магния в сероземах, черноземы занимают промежуточное положение. Водорастворимого и обменного магния в почве 3–10 %. Магний поглощается растением в виде иона Mg^{2+} . При снижении pH почвенного раствора магний поступает в растения в меньших количествах. Кальций, калий, аммоний и марганец действуют как конкуренты в процессе поглощения магния растениями.

У высших растений среднее содержание магния составляет 0,02–3 %. Особенно много его в растениях короткого дня (кукурузе, просе, сорго, а также в картофеле, свекле и бобовых). Много магния в молодых клетках, а также в генеративных органах и запасующих тканях.

Около 10–12 % магния находится в составе хлорофилла. Магний необходим для синтеза протопорфирина IX – непосредственного предшественника хлорофиллов. Магний активирует ряд реакций переноса электронов при фотофосфорилировании, он необходим для передачи электронов от фотосистемы I к фотосистеме II. Магний является кофактором почти всех ферментов, катализирующих перенос фосфатных групп. Это связано со способностью магния к комплексообразованию.

Для 9 из 12 реакций гликолиза требуется участие металлов-активаторов, и 6 из них активируются магнием. За исключением фумаразы, все ферменты цикла Кребса активируются магнием или содержат его как компонент структуры. Для двух из семи (глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа и транскетолаза) ферментов пентозофосфатного пути необходим магний. Он требуется для работы ферментов молочнокислого и спиртового брожения. Магний усиливает синтез эфирных масел, каучука, витаминов А и С. Ионы магния необходимы для формирования рибосом и полисом, связывая РНК и белок, а также для активации аминокислот и синтеза белка. Он активирует

ДНК- и РНК-полимеразы, участвует в формировании пространственной структуры нуклеиновых кислот.

Микроэлементы

Железо. Среднее содержание железа в растениях составляет 20–80 мг на 1 кг сухой массы. Ионы Fe^{3+} почвенного раствора восстанавливаются редокс-системами плазмалеммы клеток ризодермы до Fe^{2+} и в такой форме поступают в корень. Железо необходимо для функционирования основных редокс-систем фотосинтеза и дыхания, синтеза хлорофилла, восстановления нитратов и фиксации молекулярного азота клубеньковыми бактериями. При этом оно входит в состав нитратредуктазы и нитрогеназы.

Медь поступает в клетки в форме иона Cu^{2+} . Среднее содержание меди в растениях 0,2 мг на кг сухой массы. Около 70 % всей меди, находящейся в листьях, сосредоточено в хлоропластах, и почти половина ее – в составе пластоцианина (переносчика электронов между фотосистемами II и I). Она входит в состав ферментов, катализирующих окисление аскорбиновой кислоты, дифенолов и гидроксилирование монофенолов (аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, ортодифенолоксидазы и тирозиназы). Два атома меди функционируют в цитохромоксидазном комплексе дыхательной цепи митохондрий. Медь входит в состав нитратредуктазного комплекса и влияет на синтез легоглобина. Для биосинтеза этилена также необходим медьсодержащий фермент. Влияя на содержание в растениях ингибиторов роста фенольной природы, медь повышает устойчивость растений к полеганию, повышает засухо-, морозо- и жароустойчивость.

Марганец поступает в клетки в форме ионов Mn^{2+} . Среднее его содержание составляет 1 мг на 1 кг сухой массы. Марганец накапливается в листьях. Он необходим для фоторазложения воды с выделением кислорода и восстановления углекислого газа при фотосинтезе. Марганец способствует увеличению содержания сахаров и их оттоку из листьев. Два фермента цикла Кребса (малатдегидрогеназа и изоцитратдегидрогеназа) активируются ионами марганца. Он также необходим для функционирования нитратредуктазы при восстановлении нитратов. Марганец является кофактором РНК-полимеразы и ауксиноксидазы, разрушающей фитогормон 3-индолилуксусную кислоту.

Молибден. Наибольшее содержание молибдена характерно для бобовых (0,5–20 мг на 1 кг сухой массы), злаки содержат от 0,2 до 2 мг на 1 кг сухой массы. Он поступает в растения в форме аниона MoO_4^{2-} , концентрируется в молодых, растущих органах. Его больше в листьях, чем в корнях и стеблях, а в листе он сосредоточен в основном в хлоропластах. Молибден входит в состав нитратредуктазы и нитрогеназы. Молибден необходим для биосинтеза легоглобина. Как металл-активатор молибден участвует в реакциях аминирования и переаминирования, для включения аминокислот в пептидную цепь, работы таких ферментов, как ксантиноксидаза и различные фосфатазы.

Цинк. Содержание цинка в надземных частях бобовых и злаковых растений составляет 15–60 мг на 1 кг сухой массы. Повышенная концентрация отмечается в листьях, репродуктивных органах и конусах нарастания, наибольшая – в семенах. В растение цинк поступает в форме катиона Zn^{2+} . Он необходим для функционирования ферментов гликолиза (гексокиназы, енолазы, триозофосфатдегидрогеназы, альдолазы), а также входит в состав алкогольдегидрогеназы. Цинк активирует карбоангидразу, катализирующую реакцию дегидратации гидрата оксида углерода:



Это помогает использованию углекислого газа в процессе фотосинтеза. Цинк участвует в образовании триптофана. Именно с этим связано влияние катионов цинка на синтез белков, а также фитогормона 3-индолилуксусной кислоты, предшественником которой является триптофан. Подкормка цинком способствует увеличению содержания ауксинов в тканях и активирует их рост.

Бор. Его среднее содержание составляет 0,1 мг на кг сухой массы. В боре наиболее нуждаются двудольные растения. Много бора в цветках. В клетках большая часть бора сосредоточена в клеточных стенках. Бор усиливает рост пыльцевых трубок, прорастание пыльцы, увеличивает количество цветков и плодов. Без него нарушается созревание семян. Бор снижает активность некоторых дыхательных ферментов, оказывает влияние на углеводный, белковый и нуклеиновый обмен.

Лекция 6. Механизмы поглощения и транспорта минеральных элементов. Основы применения минеральных удобрений

Поглощение веществ клетками корня

Все неорганические питательные вещества поглощаются в форме ионов, содержащихся в водных растворах. Поглощение ионов клеткой начинается с их поступления в апопласт и взаимодействия с клеточной стенкой. Ионы могут частично локализоваться в межмицеллярных и межфибриллярных промежутках клеточной стенки, частично связываться и фиксироваться в клеточной стенке электрическими зарядами.

Поступившие в апопласт ионы легко вымываются. Объем клетки, доступный для свободной диффузии ионов, получил название свободного пространства. Свободное пространство включает межклетники, клеточные стенки и промежутки, которые могут возникать между клеточной стенкой и плазмалеммой. Иногда его называют кажущимся свободным пространством (КСП). Этот термин означает, что его рассчитываемый объем зависит от объекта и природы растворенного вещества. Так, для одновалентных ионов объ-

ем КСП будет больше, чем для двухвалентных. Кажущееся свободное пространство занимает в растительных тканях 5–10 % объема.

Поглощение и выделение веществ в КСП – физико-химический пассивный процесс, независимый от температуры (в интервале +15 – +35° С) и ингибиторов энергетического обмена. Клеточная стенка обладает свойствами ионообменника, так как в ней адсорбированы ионы H^+ и HCO_3^- , обменивающиеся в эквивалентных количествах на ионы внешнего раствора. Из-за преобладания отрицательных фиксированных зарядов в клеточной стенке происходит первичное концентрирование катионов (особенно двух- и трехвалентных).

Второй этап поступления ионов – транспорт через плазмалемму. Транспорт ионов через мембрану может быть пассивным и активным.

Пассивное поглощение не требует затрат энергии и осуществляется путем диффузии по градиенту концентрации вещества, для которого плазмалемма проницаема. Пассивное передвижение ионов определяется не только химическим потенциалом μ , как это имеет место при диффузии незаряженных частиц, но и электрическим потенциалом ε . Оба потенциала объединяют в виде электрохимического потенциала $\bar{\mu}$:

$$\bar{\mu} = \mu + nF\varepsilon,$$

где μ – химический, ε – электрический, $\bar{\mu}$ – электрохимический потенциалы; n – валентность иона; F – константа Фарадея.

Любая разность электрических потенциалов, которая возникает на мембранах, вызывает соответствующее перемещение ионов.

Пассивный транспорт может идти с участием переносчиков с большей скоростью, чем обычная диффузия, и этот процесс носит название облегченной диффузии. Известны высокоспецифические транслоказы – белковые молекулы, переносящие адениловые нуклеотиды через внутреннюю мембрану митохондрий: Na^+/Ca^{2+} -обменник – белок, входящий в состав плазматических мембран многих клеток; низкомолекулярный пептид бактериального происхождения валиномицин – специфический переносчик для ионов K^+ . Процесс облегченной диффузии имеет ряд особенностей: 1) описывается уравнением Михаэлиса-Ментен и имеет определенные V_{max} и K_m ; 2) селективен (обладает специфичностью к определенному иону); 3) подавляется специфическими ингибиторами.

Диффузионным путем идет также и транспорт ионов через селективные ионные каналы – интегральные белковые комплексы мембран, образующие гидрофильную пору. Основной составляющей движущей силы этого транспорта является градиент электрохимического потенциала иона. Активность каналов модулируется мембранным потенциалом, рН, концентрацией ионов и др.

Активный транспорт веществ осуществляется против концентрационного градиента и должен быть сопряжен с энергодающим процессом. Основным источником энергии для активного транспорта является АТФ. Поэтому,

как правило, активный транспорт ионов осуществляется с помощью транспортных АТФаз.

В сопрягающих мембранах имеются протонные насосы, работающие как H^+ -АТФ-азы. В результате их функционирования на мембране возникают разность концентраций протонов (ΔpH) и разность электрических потенциалов, в совокупности образующие протонный электрохимический потенциал, обозначаемый $\Delta \mu H^+$. За счет работы H^+ -АТФ-азы создается кислая среда в некоторых органеллах клетки (например лизосомах). В митохондриальной мембране H^+ -АТФ-аза работает в обратном направлении, используя $\Delta \mu H^+$, создаваемый в дыхательной цепи, для образования АТФ.

Наконец, в клетках широко представлен вторично-активный транспорт, в процессе которого градиент одного вещества используется для транспорта другого. С помощью вторично-активного транспорта клетки аккумулируют сахара, аминокислоты и выводят некоторые продукты метаболизма, используя градиент H^+ .

Пройдя через плазмалемму, ионы поступают в цитоплазму, где включаются в метаболизм клетки. Внутриклеточный транспорт ионов осуществляется благодаря движению цитоплазмы и по каналам эндоплазматического ретикулума. Ионы попадают в вакуоль, если цитоплазма и органеллы уже насыщены ими, или для пополнения пула осмотически активных частиц. Для того, чтобы попасть в вакуоль, ионы должны преодолеть еще один барьер – тонопласт. Транспорт ионов через тонопласт совершается также с помощью переносчиков и требует затраты энергии. Переносчики, расположенные в тонопласте, имеют меньшее сродство к ионам и действуют при более высоких концентрациях ионов по сравнению с переносчиками плазмалеммы. В тонопласте была идентифицирована особая H^+ -АТФаза. Она не тормозится диэтилстильбэстроном – ингибитором H^+ -АТФазы плазмалеммы.

Ближний и дальний транспорт ионов в тканях растения

Различают ближний и дальний транспорт веществ по растению. Ближний транспорт – это передвижение ионов, метаболитов и воды между клетками по симпласту и апопласту. Дальний транспорт – передвижение веществ между органами в растении по проводящим пучкам. Он включает транспорт воды и ионов по ксилеме (восходящий ток от корней к органам побега) и транспорт метаболитов по флоэме (нисходящий и восходящий потоки от листьев к зонам потребления веществ или отложения их в запас).

Загрузка сосудов ксилемы наиболее интенсивно происходит в зоне корневых волосков. В паренхимных клетках проводящего пучка, примыкающих к трахеидам или сосудам, функционируют насосы, выделяющие ионы, которые через поры в стенках сосудов попадают в их полости. В сосудах в результате накопления ионов увеличивается сосущая сила, которая притя-

гивает воду. В сосудах развивается гидростатическое давление и происходит подача жидкости в надземные органы.

Разгрузка ксилемы, то есть выход воды и ионов через поры сосудов ксилемы в клеточные стенки и в цитоплазму клеток мезофилла листа или клеток обкладки, обусловлена гидростатическим давлением в сосудах, работой насосов в плазмалемме клеток и влиянием транспирации, повышающей сосущую силу клеток листа.

Перераспределение и реутилизация ионов в растении. Взаимодействие ионов (антагонизм, синергизм, аддитивность)

Известные исследователи (И. Кноп, Ю.Сакс, Д.Н.Прянишников и др.) установили, что потребность растения в отдельных зольных элементах изменяется на разных фазах его развития. Более высокие потребности связаны с активным метаболизмом, ростом и новообразованиями. При дефиците многих минеральных элементов симптомы голодания проявляются, в первую очередь, на старых органах. Это обусловлено тем, что регуляторные системы растения мобилизуют необходимые минеральные элементы и они транспортируются в молодые, активно растущие ткани. Очень подвижны азот, фосфор, калий. Плохо или совсем не реутилизуются бор и кальций.

Для нормальной жизнедеятельности растений должно соблюдаться определенное соотношение различных ионов в окружающей среде. Чистые растворы одного какого-либо катиона оказываются ядовитыми. Так, при помещении проростков пшеницы на чистые растворы KCl или CaCl₂ на корнях сначала появлялись вздутия, а затем корни отмирали. Смешанные растворы этих солей не обладали ядовитым действием. Смягчающее влияние одного катиона на действие другого называют антагонизмом ионов. Антагонизм ионов проявляется как между разными ионами одной валентности, например между ионами натрия и калия, так и между ионами разной валентности, например ионами калия и кальция. Одной из причин антагонизма ионов является их влияние на гидратацию белков цитоплазмы. Двухвалентные катионы (кальций, магний) дегидратируют коллоиды сильнее, чем одновалентные (натрий, калий). Следующей причиной антагонизма ионов является их конкуренция за активные центры ферментов. Так, активность некоторых ферментов дыхания ингибируется ионами натрия, но их действие снимается добавлением ионов калия. Кроме того, ионы могут конкурировать за связывание с переносчиками в процессе поглощения. Действие одного иона может и усиливать влияние другого. Это явление называется синергизмом. Так, под влиянием фосфора повышается положительное действие молибдена.

Изучение количественных соотношений необходимых элементов позволило создать сбалансированные питательные смеси, растворы минеральных солей для выращивания растений. Хорошо известны смеси Кнопа, Пря-

нишникова, Гельригеля и др.

Исследования ученых школы Д. Н. Прянишникова показали, что каждый вид растения предъявляет специфические требования к количественным комбинациям отдельных зольных элементов. Было также установлено, что потребность растения в отдельных зольных элементах изменяется на разных фазах его развития. Таким образом, наилучшим питательным раствором для растения должен считаться раствор не постоянного, а переменного состава, изменяемый соответственно изменению потребностей растения на разных стадиях его развития. Это положение имеет громадное практическое значение, являясь основой нового метода искусственного поднятия урожайности. Работы Д. А. Сабинаина позволили выяснить механизмы поступления воды и минеральных веществ в клетки корней растений, антагонизма и синергизма во взаимодействии ионов.

Корневое питание как важнейший фактор управления продуктивностью и качеством урожая

В естественных биоценозах поглощенные из почвы соединения частично возвращаются с опавшими листьями, ветками, хвоей. С убранным урожаем сельскохозяйственных растений поглощенные вещества изымаются из почвы. Величина выноса минеральных элементов зависит от вида растения, урожайности и почвенно-климатических условий. Овощные культуры, картофель, многолетние травы выносят больше элементов питания, чем зерновые.

Для предотвращения истощения почвы, а также для получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур необходимо внесение удобрений. Сопоставив количество элементов в почве и растении с величиной урожая, Ю. Либих сформулировал закон минимума, или закон ограничивающих факторов. Согласно этому закону величина урожая зависит от количества того элемента, который находится в почве в относительном минимуме. Увеличение содержания этого элемента в почве за счет внесения удобрений будет приводить к возрастанию урожая до тех пор, пока в минимальном составе не окажется другой элемент. Установлена различная чувствительность растений к недостатку того или иного элемента на определенных этапах онтогенеза. Это позволяет регулировать соотношение питательных веществ в зависимости от фазы развития и условий среды. Так, известно, что в осенний период для озимых культур не рекомендуется вносить азотные удобрения, так как они усиливают ростовые процессы, снижая устойчивость растений. В осенний период надо проводить подкормки фосфором и калием, а весной – азотом.

С помощью удобрений можно регулировать не только величину уро-

жая, но и его качество. Для получения пшеницы с высоким содержанием белка надо вносить азотные удобрения; для получения продуктов с высоким содержанием крахмала (например пивоваренного ячменя или картофеля) важны фосфор и калий. Внекорневая подкормка фосфором незадолго до уборки усиливает отток ассимилятов из листьев сахарной свеклы к корнеплодам и тем самым увеличивает ее сахаристость.

Система внесения удобрений – это программа их применения в севообороте с учетом растений-предшественников, плодородия почвы, климатических условий, биологических особенностей растений, состава и свойств удобрений. Эта система создается с учетом круговорота веществ и их баланса в земледелии. Баланс питательных веществ учитывает поступление их в почву с удобрениями, суммарный расход на формирование урожаев и непродуктивные потери в почве. Необходимое условие функционирования системы удобрений – это предотвращение загрязнения окружающей среды вносимыми в почву химическими соединениями. Удобрения подразделяют на минеральные и органические, промышленные (азотные, калийные, фосфорные, микроудобрения, бактериальные) и местные (навоз, торф, зола), простые (содержат один элемент питания, например азотные, калийные, борные) и комплексные (содержат два или более питательных элемента). Среди комплексных удобрений выделяют сложные и комбинированные. Сложные удобрения в составе одного химического соединения содержат два или три питательных элемента, например калийная селитра (KNO_3), аммофос ($NH_4H_2PO_4$) и др. Одна гранула комбинированных удобрений включает два или три основных элемента питания в виде различных химических соединений (нитроаммофоска и др.).

До посева вносят 2/3 общей нормы удобрений. Они должны обеспечить растение на весь период развития элементами питания и повысить плодородие почвы. Припосевное удобрение в виде хорошо растворимых соединений вносят малыми дозами (одновременно с посевом или посадкой растений) для обеспечения минерального питания молодых растений. Послепосевные внекорневые подкормки, основанные на способности листьев поглощать минеральные соли в растворе, проводятся для усиления питания растений в наиболее важные периоды их развития.

МОДУЛЬ 2

Раздел 5. Дыхание растений

Лекция 7. Физиологическая роль дыхания. Специфика дыхания у растений

Определение процесса клеточного дыхания. Общая схема процесса дыхания

Клеточное дыхание – универсальный процесс, присущий всем организмам, тканям, клеткам, не прекращающийся в течение всего периода жизнедеятельности и обеспечивающий энергией и пластическими веществами.

Дыхание – сложная многозвенная система последовательных сопряженных ферментативных окислительно-восстановительных реакций, в ходе которых происходят постепенное изменение химической природы органических соединений, трансформация и использование их внутренней энергии.

Дыхание относится к категории катаболических процессов.

Процесс клеточного дыхания включает несколько этапов и осуществляется последовательно и скоординированно в нескольких компартментах клетки.

Подготовительный этап – гидролиз полимеров и сложных соединений (полисахариды, белки, жиры) – происходит в основном в лизосомах.

Гликолиз – первый этап окисления субстрата – осуществляется в гиаллоплазме (хлоропласты).

Цикл Кребса локализован в матриксе митохондрий. Это заключительный этап превращения субстрата.

Электрон-транспортная цепь дыхания – заключительный этап трансформации энергии окисляемого субстрата с участием кислорода.

Типы окислительно-восстановительных реакций

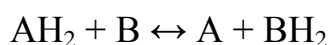
Несмотря на сложность реакций процесса клеточного дыхания, их объединяют несколько типов окислительно-восстановительных реакций:

1. При окислении донор отдает, а акцептор принимает только электроны:



(цитохромы, железосерные белки и т. п.).

2. При окислении донор отдает, а акцептор принимает электроны и протоны:



(дегидрогеназы, оксидазы).

Часто в таких реакциях участвует предварительно фосфорилированный или гидратированный донор.

3. Окисление связано с включением одного или двух атомов кислорода в молекулу окисляемого субстрата с образованием окисей и перекисей (оксигеназы).

Каталитические системы дыхания.

Механизмы активации водорода субстрата и молекулярного кислорода

Ферменты, участвующие в процессе дыхания, можно разделить на несколько функциональных групп: оксидоредуктазы (дегидрогеназы, оксидазы); изомеразы; карбоксилазы; трансферазы; оксигеназы. Изомеразы, карбоксилазы, трансферазы и некоторые другие ферменты не участвуют непосредственно в окислительных реакциях, но они преобразуют окисляемый субстрат таким образом, что он становится более «удобным» для окислительных ферментов.

Основную функциональную группу ферментов дыхания – оксидоредуктазы – традиционно делят на дегидрогеназы, активирующие водород субстрата, и оксидазы, активирующие молекулярный кислород.

Дегидрогеназы, в свою очередь, по природе кофакторов, акцепторов и окисляемых группировок молекулы субстрата делят на две подгруппы.

Первая – анаэробные, или пиридиновые, дегидрогеназы. Это двухкомпонентные ферменты, коферментом которых являются НАД или НАДФ. Они передают электроны различным акцепторам, но не кислороду, и отнимают два электрона и протона от субстрата. Окисляемая группировка – СНОН- . Два электрона и один протон присоединяются к коферменту, а другой протон выделяется в среду. В зависимости от апофермента, определяющего специфичность фермента к субстрату, различают более 150 ферментов.

Вторая – аэробные, или флавиновые, дегидрогеназы. Они катализируют отнятие двух электронов и протонов от субстратов и передают их от анаэробных дегидрогеназ разным акцепторам (хиноны, цитохромы), в том числе и кислороду. Простетической группой служат производные витамина В_2 – флавинадениндинуклеотид и флавиномононуклеотид. Окисляемая группировка $-\text{СН}_2-\text{СН}_2-$.

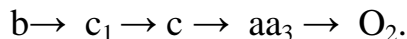
Оксидазы. Эти ферменты передают электроны от субстрата только на кислород. При этом образуются вода (на О_2 переносятся 4 электрона – цитохромоксидаза), перекись водорода ($\text{Н}_2\text{О}_2$, на О_2 переносится 2 электрона – флавиновые оксидазы) или супероксидный анион кислорода (на О_2^- переносится 1 электрон – ксантиноксидаза). Перекись водорода и супероксидный анион кислорода весьма токсичны и поэтому быстро превращаются в воду и кислород под действием каталазы и супероксиддисмутазы соответственно.

Большинство оксидаз являются металлсодержащими белками и делятся на железосодержащие и медьсодержащие белки.

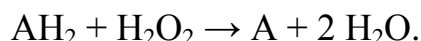
Железосодержащие оксидазы – сложные ферменты, коферментом которых является железопорфириновые производные.

К железопорфиринам относятся цитохромы групп *a*, *b*, *c*, пероксидазы и каталаза.

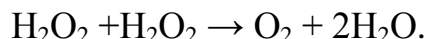
Коферментные части различных групп цитохромов различаются незначительно, но эти различия и специфика апоферментов определяют величину их окислительно-восстановительного потенциала. В дыхательной цепи цитохромы осуществляют транспорт электронов по градиенту окислительно-восстановительного потенциала переносчиков:



Пероксидазы не участвуют в основном пути клеточного дыхания, но выполняют важную роль при инактивации перекиси водорода, которая образуется при работе флавиновых оксидаз. Пероксидазы используют перекись водорода в качестве акцептора электронов и протонов при окислении разнообразных субстратов:



Каталаза использует перекись не только в качестве акцептора, но и в качестве донора электронов и протонов; при этом одна молекула перекиси окисляется до молекулярного кислорода, вторая – восстанавливается до воды:



Медьсодержащие оксидазы являются простыми ферментами. К ним относятся полифенолоксидазы и аскорбатоксидаза. Эти оксидазы могут выполнять функции альтернативных терминальных оксидаз в электрон – транспортной цепи растительных клеток. Аскорбатоксидаза в комплексе с глутатион-редуктазной системой может обеспечивать регенерацию окисленной формы НАД при блокировании основного пути транспорта электронов по ЭТЦ.

Оксигеназы активируют кислород и катализируют его присоединение к различным органическим соединениям (аминокислоты, фенолы, ненасыщенные жирные кислоты, ксенобиотики – чужеродные токсичные вещества). В качестве доноров электронов оксигеназы используют NAD(P)H, FADH₂ и др.

Специфика дыхания у растений

Дыхание растений намного сложнее, чем дыхание животных. Разнообразие каталитических механизмов дыхания у растений представляет собой адаптивный механизм, позволяющий растению сохранять необходимый уровень дыхательного метаболизма в непрерывно меняющихся условиях внешней среды. Гетерогенность ферментативной системы дыхания растений определяется не только разнообразием ферментов, но и большим набором изоферментов, синтез которых индуцируется при изменении комплекса физико-химических параметров в клетке.

Лекция 8. Основные пути диссимилиации углеводов

Гликолиз

Реакции гликолиза идут в цитозоле и в хлоропластах. Есть три этапа гликолиза: 1 – подготовительный (фосфорилирование гексозы и образование двух фосфотриоз); 2 – первое окислительное субстратное фосфорилирование; 3 – второе внутримолекулярное окислительное субстратное фосфорилирование.

Сахара подвергаются метаболическим превращениям в виде сложных эфиров фосфорной кислоты. Глюкоза предварительно активируется путем фосфорилирования. В АТФ-зависимой реакции, катализируемой гексокиназой, глюкоза превращается в глюкозо-6-фосфат.

После изомеризации глюкозо-6-фосфата в фруктозо-6-фосфат последний вновь фосфорилируется с образованием фруктозо-1,6-дифосфата. Фосфофруктокиназа, катализирующая эту стадию, является важным ключевым ферментом гликолиза. Таким образом, на активацию одной молекулы глюкозы расходуются две молекулы АТФ.

Фруктозо-1,6-дифосфат расщепляется альдолазой на два фосфорилированных C_3 -фрагмента. Эти фрагменты – глицеральдегид-3-фосфат и дигидроксиацетонфосфат – превращаются один в другой триозофосфатизомеразой.

Глицеральдегид-3-фосфат окисляется глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой с образованием НАДН + H^+ . В этой реакции в молекулу включается неорганический фосфат с образованием 1,3-дифосфоглицерата. Такое промежуточное соединение содержит смешанную ангидридную связь, расщепление которой является высокоэкзоэргическим процессом. На следующей стадии, катализируемой фосфоглицераткиназой, гидролиз этого соединения сопряжен с образованием АТФ.

Следующий промежуточный продукт, гидролиз которого может быть сопряжен с синтезом АТФ, образуется в реакции изомеризации 3-фосфоглицерата, полученного в результате реакции окисления 3ФГА, в 2-фосфоглицерат (фермент фосфоглицератмутаза) и последующего отщепления воды (фермент энолаза). Продукт представляет собой сложный эфир фосфорной кислоты и энольной формы пирувата и потому называется фосфоэнолпируватом (ФЭП). На последней стадии, которая катализируется пируваткиназой, образуются пируват и АТФ.

Наряду со стадией окисления ФГА и тиокиназной реакцией в цитратном цикле это третья реакция, позволяющая клеткам синтезировать АТФ, независимо от дыхательной цепи. Несмотря на образование АТФ, она высоко-экзоэргична и потому необратима.

В результате гликолиза из одной молекулы глюкозы образуется 2 молекулы пировиноградной кислоты и 4 молекулы АТФ. Поскольку макроэрги-

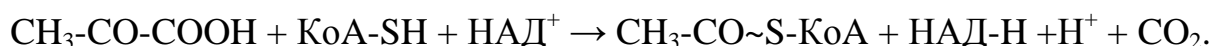
ческая связь формируется прямо на окисляемом субстрате, такой процесс образования АТФ получил название субстратного фосфорилирования. Две молекулы АТФ покрывают расход на первоначальное активирование субстрата за счет фосфорилирования. Следовательно, накапливаются 2 молекулы АТФ. Кроме того, в ходе гликолиза 2 молекулы НАД восстанавливаются до НАДН.

В процессе гликолиза молекула глюкозы деградирует до двух молекул пирувата. Кроме того, образуется по две молекулы АТФ и НАДН + H⁺ (аэробный гликолиз).

Превращение пирувата

В анаэробных условиях пируват претерпевает дальнейшие превращения, обеспечивая при этом регенерацию НАД⁺. При этом образуются продукты брожения, такие, как лактат или этанол (анаэробный гликолиз). В этих условиях гликолиз является единственным способом получения энергии для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата. В аэробных условиях образовавшиеся 2 молекулы пировиноградной кислоты вступают в аэробную фазу дыхания.

Аэробная фаза дыхания локализована в митохондриях. Пировиноградная кислота окисляется до воды и углекислого газа в дыхательном цикле, получившем название цикла ди- и трикарбоновых кислот, или цикла Кребса, в честь английского биохимика Г. Кребса, описавшего этот путь. В этом цикле окисляется не сама пировиноградная кислота, а ее производное – ацетилкоэнзим А. Он образуется в результате окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты. Процесс этот состоит из ряда реакций и катализируется сложной мультиферментной системой, состоящей из трех ферментов и пяти коферментов и названной пируваткарбоксилазой:



Подобный мультиферментный комплекс участвует в окислении α-кетоглутаровой кислоты в цикле Кребса. Процесс окислительного декарбоксилирования кетокислот сопровождается образованием ацил-коэнзима А с макроэргическим групповым потенциалом (схема к субстратному фосфорилированию).

Цикл Кребса

Цикл Кребса дан на слайде 8.3, где Ф₁ – цитратсинтаза (конденсирующий фермент); Ф₂ – аконитаза; Ф₃ – изоцитратдегидрогеназа; Ф₄ – α-кетоглутаратдегидрогеназа; Ф₅ – сукцинилтиокиназа; Ф₆ – сукцинатдегидрогеназа; Ф₇ – фумараза; Ф₈ – малатдегидрогеназа; Ф₉ – изоцитратлиаза; Ф₁₀ – малатсинтаза. Включение углеродных атомов ацетильного остатка в мо-

лекулу лимонной кислоты помечено «звездочками». Пунктирными линиями изображены реакции глиоксилатного шунта.

Собственно ЦТК начинается с конденсации ацетил-КоА с молекулой щавелевоуксусной кислоты, катализируемой цитратсинтазой. Продуктами реакции являются лимонная кислота и свободный кофермент А.

Лимонная кислота с помощью фермента аконитазы последовательно превращается в цис-аконитовую и изолимонную кислоты. При этом за счет перемещения гидроксила и протона при присоединении воды в молекуле изолимонной кислоты появляется группировка, $-НСОН-$, которой не было в молекуле лимонной кислоты и которую способна окислить НАД-зависимая дегидрогеназа.

Изолимонная кислота превращается в α -кетоглутаровую кислоту в реакции, катализируемой изоцитратдегидрогеназой. На первом этапе реакции имеет место дегидрирование изолимонной кислоты, в результате которого образуются щавелевоянтарная кислота и $НАД-Н + H^+$. На втором этапе щавелевоянтарная кислота, все еще, вероятно, связанная с ферментом, подвергается декарбоксилированию. Продукты реакции – α -кетоглутаровая кислота, освобождающаяся от фермента, и CO_2 .

Далее α -кетоглутаровая кислота подвергается далее окислительному декарбоксилированию, катализируемому α -кетоглутаратдегидрогеназным комплексом, в результате чего образуется сукцинил-КоА. Эта реакция – единственная необратимая реакция из десяти, составляющих ЦТК. Один из продуктов реакции – сукцинил-КоА – представляет собой соединение, содержащее высокоэнергетическую тиоэфирную связь.

Следующий этап – образование янтарной кислоты из сукцинил-КоА, катализируемое сукцинилтиокиназой, в результате которого энергия, освобождающаяся при разрыве тиоэфирной связи, запасается в фосфатной связи ГТФ. ГТФ затем отдает свою фосфатную группу молекуле АДФ, что приводит к образованию АТФ. Следовательно, на данном этапе ЦТК идет субстратное фосфорилирование.

Янтарная кислота окисляется в фумаровую с помощью фермента сукцинатдегидрогеназы. Кофактором фермента является ФАД.

Далее фумаровая кислота гидратируется под действием фумаразы, в результате чего образуется яблочная кислота.

Яблочная кислота подвергается окислению, приводящему к образованию ЩУК. Реакция катализируется НАД-зависимой малатдегидрогеназой.

Этой реакцией завершается ЦТК, так как вновь регенерируется молекула-акцептор (ЩУК), запускающая следующий оборот цикла.

Энергетическим «топливом», перерабатываемым в ЦТК, служат не только углеводы, но и жирные кислоты (после предварительной деградации до ацетил-КоА), а также многие аминокислоты (после удаления аминогруппы в реакциях дезаминирования или переаминирования).

В результате одного оборота цикла Кребса происходят два декарбоксилирования, четыре дегидрирования и одно фосфорилирование. Итогом 2-х декарбоксилирований является выведение из цикла 2-х атомов углерода

(2 молекулы CO_2), т. е. их выводится ровно столько, сколько поступило в виде ацетильной группы. В результате 4-х дегидрирований образуются 3 молекулы НАД-Н₂ и 1 молекула ФАД-Н₂. Как видно, в процессе этих превращений весь водород оказывается на определенных переносчиках, а потому встает задача передать его через другие переносчики на молекулярный кислород.

При окислении одной молекулы пировиноградной кислоты образуются 3 молекулы НАДН, 1 молекула НАДФН и 1 молекула ФАДН₂, при окислении которых в дыхательной электрон-транспортной цепи синтезируются 14 молекул АТФ. Кроме того, 1 молекула АТФ образуется в результате субстратного фосфорилирования.

ЦТК можно рассматривать как выработанный клеткой механизм, имеющий двоякое назначение. Основная функция его заключается в том, что это совершенный клеточный «котел», в котором осуществляются полное окисление вовлекаемого в него органического субстрата и отщепление водорода. Другая функция цикла – снабжение клетки рядом предшественников для биосинтетических процессов. Обычно ЦТК является дальнейшей «надстройкой» над анаэробными энергетическими механизмами клетки.

Глиоксилатный цикл

Поскольку из цикла Кребса происходит постоянный отток метаболитов для биосинтеза различных соединений, приводящий к понижению уровня ЦУК, возникает необходимость в ее дополнительном синтезе.

Это обеспечивается как в реакциях карбоксилирования пирувата или фосфоенолпирувата (см. схему гликолиза), так и с помощью последовательности из двух реакций, получивших название глиоксилатного шунта.

Он является модификацией цикла Кребса и локализован не в митохондриях, а в глиоксисомах. В этих органеллах образуется изолимонная кислота, как и в цикле Кребса. Затем под действием изоцитратлиазы она распадается на глиоксиловую и янтарную кислоты. Глиоксиловая кислота реагирует со второй молекулой ацетилкоэнзима А с образованием яблочной кислоты, т. е. в результате двух новых реакций происходит синтез C_4 -кислоты из двух C_2 -остатков. Затем яблочная кислота окисляется до щавелевоуксусной. Янтарная кислота выходит из глиоксисомы и превращается в щавелевоуксусную кислоту.

В первой из них изолимонная кислота под действием изоцитратлиазы расщепляется на янтарную и глиоксиловую кислоты. Во второй реакции, катализируемой малатсинтетазой, глиоксиловая кислота конденсируется с ацетил-КоА с образованием яблочной кислоты, превращающейся далее в ЦУК.

Апотомический путь

Апотомический путь катаболизма гексоз (пентозофосфатный путь окисления глюкозы, гексозомонофосфатный цикл, пентозный шунт) происходит в цитоплазме и при отсутствии света в хлоропластах. Он состоит из двух этапов:

1. Окислительный этап. Глюкоза фосфорилируется при участии гексокиназы до глюкозо-6-фосфата. Он окисляется глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой. Образуются восстановленный НАДФН и лактон фосfogлюконовой кислоты. Лактон произвольно или при участии глюконолактозы гидролизуется до 6-фосfogлюконовой кислоты. Она под действием фосfogлюконатдегидрогеназы с коферментом НАДФ декарбоксилируется с образованием восстановленного НАДФН и пятиуглеродного сахара рибулозо-5-фосфата. Отсюда и название апотомический путь (апотомия – усекновение).

2. Этап регенерации. Последующие реакции представляют собой цикл регенерации исходного субстрата – глюкозо-6-фосфата. Из шести молекул глюкозо-6-фосфата образуются 6 молекул CO_2 и 6 молекул рибулозо-5-фосфата, из которых восстанавливаются 5 молекул глюкозо-6-фосфата. При этом также образуются 12 молекул НАДФН, которые при окислении в дыхательной электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) могут дать 36 молекул АТФ, что не уступает энергетическому выходу гликолитического пути, но, как правило, НАДФН используется в клетке в восстановительных реакциях при синтезе различных соединений. Метаболиты апотомического пути участвуют в обмене веществ.

Лекция 9. Электрон-транспортная цепь дыхания растений

Структурная организация ЭТЦ дыхания

Дыхательная электрон-транспортная цепь состоит из переносчиков электронов, которые передают электроны от субстратов на кислород. Расположение переносчиков определяется величиной их окислительно-восстановительного потенциала. Цепь начинается с НАДН, имеющего потенциал $-0,32 \text{ В}$, и кончается кислородом с потенциалом $+0,82 \text{ В}$. Переносчики расположены по обеим сторонам внутренней мембраны митохондрий и пересекают ее. На внутренней стороне мембраны, расположенной к матриксу митохондрии, два протона и два электрона от НАДН переходят на флавиномононуклеотид и железосерные белки. Флавиномононуклеотид, получив протоны, восстанавливается и переносит их на внешнюю сторону мембраны, где отдает протоны межмембранному пространству. Железосерные белки, находящиеся внутри мембраны, передают электроны от НАДН окисленному убихинону Q. Он, присоединив еще два протона, диффундирует в мембране к цитохромам. Цитохром b_{560} отдает два электрона убихинону, который, присоединив еще два протона из матрикса, передает два электрона цитохрому b_{556} и два электрона цитохрому c_1 , а протоны выходят в межмембранное пространство. На наружной стороне мембраны цитохром c, получив два электрона от цитохрома c_1 , передает их цитохрому a, который переносит их через мембрану на цитохром a_3 . Цитохром a_3 , связывая кислород, отдает ему электроны. Кислород присоединяет два протона с образованием воды.

ЭТЦ митохондрий растений, в отличие от животных, включает альтернативную цианидустойчивую терминальную оксидазу, локализованную на

внутренней мембране, альтернативную rotenонустойчивую НАД(Ф)Н-дегидрогеназу в матриксе митохондрий, а также НАД(Ф)Н-дегидрогеназу в межмембранном пространстве, которая способна принимать электроны от НАД(Ф)Н, образующихся в цитозоле.

Комплексы переносчиков электронов

Дыхательная цепь включает четыре белковых комплекса (комплексы I, II, III и IV), встроенных во внутреннюю митохондриальную мембрану, и две подвижные молекулы-переносчики – убихинон (кофермент Q) и цитохром *c*. Сукцинатдегидрогеназа, принадлежащая собственно к цитратному циклу, также может рассматриваться как комплекс II дыхательной цепи.

Комплексы дыхательной цепи построены из множества полипептидов и содержат ряд различных окислительно-восстановительных коферментов, связанных с белками. К ним принадлежат флавин (ФМН (FMN) или ФАД (FAD) в комплексах I и II), железо-серные центры (в I, II и III) и группы гема (в II, III и IV).

Электроны поступают в дыхательную цепь различными путями. При окислении НАДН + H^+ комплекс I переносит электроны через ФМН и Fe/S-центры на убихинон. Электроны, образующиеся при окислении сукцината, ацил-КоА и других субстратов, переносятся на убихинон комплексом II или другой митохондриальной дегидрогеназой через связанный с ферментом ФАДН₂ или флавопротеин. При этом окисленная форма кофермента Q восстанавливается в ароматический убигидрохинон. Последний переносит электроны в комплекс III, который поставляет их через два гема *b*, один Fe/S-центр и гем *c*₁ на небольшой гемсодержащий белок цитохром *c*. Последний переносит электроны к комплексу IV, цитохром – *c*-оксидазе. Для осуществления окислительно-восстановительных реакций цитохром – *c*-оксидаза содержит два медьсодержащих центра (Cu_A и Cu_B) и гемы *a* и *a*₃, через которые электроны наконец поступают к кислороду. При восстановлении O₂ образуется сильный основной анион O²⁻, который связывает два протона и переходит в воду. Поток электронов сопряжен с протонным градиентом, образованным комплексами I, III и IV.

Для импорта восстановительных эквивалентов в форме НАДН+H⁺ (кофермент-связанного водорода), образующихся в цитоплазме путем гликолиза, в митохондриях имеются несколько челночных систем, например пара малат-оксалоацетат. Основной функцией этого механизма является перенос восстановительных эквивалентов в составе малата. Малат, попадая в матрикс при посредстве переносчика, окисляется до оксалоацетата (под действием малатдегидрогеназы). Оксалоацетат переносится обратно в цитоплазму лишь после трансаминирования в аспартат. Поскольку оксалоацетат может образовываться в избыточном количестве, в реакции трансаминирования и последующем транспорте принимает участие глутамат и 2-оксоглутарат.

Малатный челнок функционирует в обоих направлениях, обеспечивая перенос восстановительных эквивалентов от цитоплазматического НАДН в митохондрии без переноса НАД⁺.

Особенностью клеточного дыхания растений является наличие альтернативных путей транспорта электронов.

Образование трансмембранного потенциала протонов

Таким образом, самопроизвольный транспорт электронов по градиенту окислительно-восстановительного потенциала переносчиков сопряжен с векторным переносом протонов из матрикса в межмембранное пространство. В интактных митохондриях только АТФ-синтаза позволяет осуществить обратное движение протонов в матрикс. На этом основано важное в регуляторном отношении сопряжение электронного переноса с образованием АТФ. Возникающая разность потенциалов по обеим сторонам внутренней мембраны митохондрий используется для синтеза АТФ (окислительное фосфорилирование). В результате прохождения двух электронов по цепи образуются три молекулы АТФ.

Синтез АТФ сопряжен с обратным потоком протонов (из межмембранного пространства – в матрикс).

Немитохондриальные ЭТЦ

В растительных клетках дыхательные электрон-транспортные цепи локализованы не только во внутренней мембране митохондрий, но и в других мембранах: плазмалемме, ЭПР, мембранах микросом и т.д. Эти ЭТЦ способны окислять восстановленный НАД(Ф)Н, генерировать протонный градиент на мембранах, энергия которого используется на транспорт веществ через эти мембраны. Данные цепи укорочены, включают, как правило, флавиновый кофермент, цитохромы группы *b*, систему окисления глутатиона и аскорбата, полифенолоксидазы.

Лекция 10. Фосфорилирование

Субстратное фотофосфорилирование

Так как синтез АТФ является высокоэндоэргической реакцией, он должен сопрягаться с другим высокоэкзоэргическим процессом. В ходе эволюции сформировались два важных способа синтеза АТФ, которые реализуются по всем клеткам. Наиболее эффективный способ синтеза АТФ использует энергию градиента электрохимического потенциала для образования АТФ из АДФ (ADP) и неорганического фосфата. Энергия для создания такого градиента выделяется в результате окислительно-восстановительного процесса. Этот механизм называют окислительным фосфорилированием. Транспортирующая H⁺ АТФ-синтаза использует для синтеза АТФ энергию градиента по-

тенциала. У эукариот окислительное фосфорилирование происходит только в присутствии кислорода, т. е. в аэробных условиях.

Второй, эволюционно более ранний, способ синтеза АТФ осуществляется без участия кислорода. Он основан на переносе фосфатных остатков на АДФ через метаболит с высоким потенциалом переноса фосфатных групп.

Такие процессы называют субстратным фосфорилированием, поскольку они являются частью метаболического пути («субстратной цепи»). Один из таких промежуточных этапов – образование ГТФ в цитратном цикле; вторая такая реакция, ответственная за образование макроэргических связей, осуществляется в процессе гликолиза. Для растительной клетки характерны три типа реакций, в ходе которых осуществляется субстратное фосфорилирование: окисление 3ФГА, энолазная реакция и окислительное декарбоксилирование кетокислот. Первые две – реакции гликолиза, последняя – реакция цикла Кребса.

1. Рассмотрим реакцию, катализируемую глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой. Сначала SH-группа остатка цистеина молекулы фермента присоединяет карбонильную группу глицеральдегид-3-фосфата. Этот промежуточный продукт окисляется НАД⁺ с образованием макроэргической тиол-сложноэфирной связи. На третьей стадии неорганический фосфат замещает тиол с образованием смешанного ангидрида 1,3-дифосфоглицерата. В этом соединении фосфатный остаток обладает настолько высоким потенциалом, что на следующей стадии может переноситься на АДФ.

2. Образование макроэргического группового потенциала в реакции превращения 2-фосфоглицериновой кислоты в фосфоэнолпируват связано с внутримолекулярными изменениями степени окисленности двух и трех атомов углерода при отщеплении воды.

3. Функционирование мультиферментных комплексов, катализирующих сложную многостадийную реакцию окислительного декарбоксилирования 2-кетокислот и переноса образующегося ацильного остатка на кофермент А. В качестве акцептора электронов выступает НАД⁺. Кроме того, в реакции участвуют тиаминдифосфат, липоамид и ФАД. К дегидрогеназам кетокислот относятся:

- а) пируватдегидрогеназный комплекс (ПДГ, пируват → ацетил-КоА);
- б) 2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс цитратного цикла (ОГД, 2-оксоглутарат → сукцинил-КоА).

В пируватдегидрогеназной реакции участвуют три различных фермента. Пируватдегидрогеназа (E₁) катализирует декарбоксилирование пирувата, перенос образованного гидроксиэтильного остатка на тиаминдифосфат (ТРР), а также окисление гидроксиэтильной группы с образованием ацетильного остатка. Этот остаток и полученные восстановительные эквиваленты переносятся на липоамид. Следующий фермент, дигидролипонацетилтрансфераза (E₂), переносит ацетильный остаток с липоамида на кофермент А, при этом липоамид восстанавливается до дигидролипонида. Последний

снова окисляется до липоамида третьим ферментом, дигидролипоамиддегидрогеназой (E_3), с образованием НАДН + H^+ ($NADH + H^+$). Электроны переносятся на растворимый НАД $^+$ через ФАД и каталитически активный дисульфидный мостик субъединицы E_3 .

Пять разных коферментов этой реакции различными способами ассоциированы с белковыми компонентами ферментов. Тиаминдифосфат нековалентно связан с E_1 , липоамид ковалентно связан с остатком лизина E_2 , а ФАД прочно ассоциирован в виде простетической группы на E_3 . НАД $^+$ (NAD^+) и кофермент А взаимодействуют с комплексом в виде растворимых коферментов.

Аналогичным способом осуществляется и окислительное декарбоксилирование 2-оксоглутарата. Образовавшийся сукцинил-коэнзим А фосфорилируется ортофосфорной кислотой с образованием сукцинил-фосфата и освобождением КоА. Фосфатная группа с макроэргическим групповым потенциалом передается на АДФ с образованием АТФ.

Окислительное фосфорилирование

Для объяснения механизма синтеза АТФ, сопряженного с транспортом электронов в ЭТЦ дыхания, были предложены несколько гипотез: химическая (по аналогии с субстратным фосфорилированием); механохимическая (основанная на способности митохондрий изменять объем); хемиосмотическая (постулирующая промежуточную форму трансформации энергии окисления в виде трансмембранного протонного градиента).

В настоящее время общепринятой считается хемиосмотическая теория сопряжения электронного транспорта и фосфорилирования.

Хемиосмотический принцип сопряжения

В 1961 г. П. Митчелл предложил гипотезу, согласно которой поток электронов по ЭТЦ сопровождается транспортом протонов из матрикса в межмембранное пространство митохондрий. В результате на внутренней мембране митохондрий формируется электрохимический градиент протонов, который и является непосредственным источником энергии для синтеза АТФ. Синтез АТФ осуществляется в процессе транспорта протонов по градиенту концентрации через протонный канал АТФ-синтетазного комплекса.

Доказательства правильности гипотезы:

- 1) действие разобщителей;
- 2) синтез АТФ в условиях искусственно созданного градиента;
- 3) транспорт ионов через внутреннюю мембрану митохондрий по градиенту заряда;

4) эксперименты Рэкера с «химерами» – модельными системами, включающими фосфолипидную мембрану из соевых бобов, мембранные везикулы с АТФ-азой митохондрий сердца быка и бактериородопсин галофильной бактерии, – генерирующими протонный градиент на мембране за счет энергии света и т. д.

В настоящее время хемиосмотическая теория сопряжения окисления в ЭТЦ и фосфорилирования является общепризнанной.

АТФ-синтаза

H^+ -транслоцирующая АТФ-синтаза состоит из двух частей: встроенного в мембрану протонного канала (F_0) из по меньшей мере 13-ти субъединиц и каталитической субъединицы (F_1), выступающей в матрикс. «Головка» каталитической части образована тремя α - и тремя β -субъединицами, между которыми расположены три активных центра. «Ствол» структуры образуют полипептиды F_0 -части и γ -, δ - и ϵ -субъединиц «головки».

Каталитический цикл подразделяется на три фазы, каждая из которых проходит поочередно в трех активных центрах. Вначале идет связывание АДФ (ADP) и P_i , затем образуется фосфоангидридная связь и наконец освобождается конечный продукт реакции. При каждом переносе протона через белковый канал F_0 в матрикс все три активных центра катализируют очередную стадию реакции. Предполагается, что энергия протонного транспорта прежде всего расходуется на поворот γ -субъединицы, в результате которого циклически изменяются конформации α - и β -субъединиц.

Факторы, влияющие на окислительное фосфорилирование

Ниже представлены эти факторы. Среди них:

1) действие ингибиторов дегидрогеназ, которое выражается в препятствовании окислению субстратов, что снижает выделение водорода в дыхательную цепь. Эти ингибиторы – производные NAD, FAD; тяжелые металлы и мышьяк (III) (блокирование SH- групп дегидрогеназ); малонат – конкурент сукцинатдегидрогеназы;

2) блокирование звеньев образования протонного потенциала; барбитал, ротенон прерывают поступление H от NADH, т. е. от субстратов, окисляющихся NAD- зависимыми дегидрогеназами (возможно и FAD- зависимыми); CN-, азиды, CO- блокируют цитохромоксидазы, передачу водорода на кислород. Возникает ситуация кислородного голодания, хотя кислород наличествует в избытке. Выключаются протонный градиент и связанное с ним фосфорилирование. Наступает энергетический голод и прекращается жизнедеятельность (пример – ядовитость KCN);

3) действие разобщителей окислительного фосфорилирования, что способствует транспорту протонов в обход АТФ-синтетазы, прекращает фосфорилирование, но не прерывает электронный транспорт, а идет только одно дыхание (с выделением тепла). Среди таких разобщителей: протониферы (динитрофенол и т. п.) $R-COO^- + H^+ \rightarrow R-COOH \rightarrow (мембрана) \rightarrow R-COO^- + H^+$; ионофоры (полипептидные антибиотики), которые создают дыры в мембране, проходимые для ионов и протонов (валиномицин, грамицидин А и др.);

4) действие ингибиторов фосфорилирования (олигомицин), что нарушает проток протонов по каналу F_o , одновременно ингибируя синтез АТФ в активном центре F_1 . Фосфорилирование прекращается, а с ним прекращается и дыхание. Протониферы снимают угнетающее влияние ингибиторов на дыхание, хотя фосфорилирование остается подавленным.

Лекция 11. Роль дыхания в продукционном процессе

Взаимосвязь дыхания с другими процессами обмена

В качестве субстратов для дыхания нужны углеводы, которые образуются в ходе фотосинтеза. Многие промежуточные продукты дыхания необходимы для биосинтеза важнейших соединений. Триозофосфат, превращаясь в глицерин, может использоваться при синтезе жиров. Пировиноградная, кетоглутаровая и щавелевоуксусная кислоты путем аминирования превращаются в аланин, глутаминовую и аспарагиновую аминокислоты. Они используются при синтезе белков. Янтарная кислота дает основу для формирования порфиринового ядра хлорофилла. Ацетилкоэнзим А является исходным материалом для образования жирных кислот. Пентозы, образующиеся в ходе апопомического пути окисления, входят в состав нуклеотидов, нуклеиновых кислот, никотинамидных и флавиновых коферментов. Эритрозо-4-фосфат, реагируя с фосфоэнолпировиноградной кислотой, образует шикимовую кислоту, которая необходима для образования ароматических аминокислот, например триптофана. Триптофан участвует в синтезе белков и является предшественником фитогормона 3-индолилуксусной кислоты.

Составляющие дыхания: дыхание роста, дыхание поддержания

Разделение дыхания на компоненты дает возможность выявить особенности использования ассимилятов у различных генотипов, более точно определить причины увеличения дыхательных расходов в онтогенезе растения и найти пути их уменьшения. Дыхание роста представляет собой ту часть темнового дыхания, которая обеспечивает энергией все звенья многоступенчатых цепей биохимических синтезов, в результате которых из конечных продуктов фотосинтеза и минеральных элементов создается новая структурная фитомасса растения. Дыхание поддержания включает энергию, необходимую для ресинтеза тех веществ, которые претерпевают обнов-

ление в процессе обмена веществ, а также для поддержания в клетках должной концентрации ионов и величины рН, сохранения внутриклеточного фонда метаболитов против градиента концентрации, поддержания функционально активного состояния структур.

Для разделения дыхания на составляющие применяют различные методы: расчетный, темновой, экстраполяционный; температурный и др. Предполагается, что скорость синтеза структурного вещества растения пропорциональна интенсивности дыхания роста, определяемого как разность между суммарным дыханием и дыханием на поддержание. Последнее считается пропорциональным массе структурного вещества растения. Изменение содержания свободных ассимилятов рассчитывается как разность между поступлением свободных ассимилятов в процессе фотосинтеза и использованием их на процессы дыхания и синтеза структурного вещества.

На базе многочисленных экспериментальных данных было выведено уравнение расчета составляющих дыхания

$$R = R_m + R_g = mW + aP,$$

где R – суммарное дыхание; R_m – дыхание поддержания; R_g – дыхание роста.

Дыхание поддержания коррелирует с массой (W), а дыхание накопления – с продуктивностью фотосинтеза (P).

Согласно теоретическим расчетам коэффициент дыхания роста (a) составляет 0,17–0,24 г/г, коэффициент дыхания поддержания (m) равен 0,01–0,03 г/г в сутки. Коэффициент a слабо зависит от температуры, водного дефицита, влажности воздуха, интенсивности света и практически постоянен в онтогенезе; более высокие значения (0,3–0,5 г/г) получены для листьев северных растений и корней растений умеренной зоны. Значение 0,2 г/г – значение для корней северных растений и целых растений всех изученных климатических зон. Большая величина a у листьев растений Севера коррелирует с большим количеством белка в них.

Коэффициент m зависит от температуры, водного дефицита, условий минерального питания. Он различен для отдельных органов и изменяется в онтогенезе. В течение вегетации соотношение R_g и R_m изменяется.

Среди аспектов проблемы продуктивности растений важное место занимает оценка количественного соотношения дыхания и фотосинтеза. Оптимальный баланс углерода является одним из критериев приспособленности растений к условиям местообитания; поэтому определение указанного соотношения дыхания и фотосинтеза широко практикуется в эколого-физиологических исследованиях. В благоприятных условиях интенсивность дыхания листа не превышает 5–15% интенсивности фотосинтеза. Определение соотношения дыхания и фотосинтеза целого растения на протяжении жизненного цикла позволяет выявить основные закономерности в продуцировании биомассы.

Влияние внешних факторов на процесс дыхания

Кислород необходим для осуществления дыхания, так как он является конечным акцептором электронов в дыхательной электрон-транспортной цепи. Низкие концентрации кислорода (гипо- и аноксия) вызывают ингибирование дыхания и нарушение многих метаболических процессов. У растений, произрастающих в условиях с низким уровнем кислорода, в зоне ризосферы выработаны механизмы адаптации к этим условиям.

Увеличение содержания кислорода в воздухе до 8–10 % сопровождается повышением интенсивности дыхания. Дальнейшее увеличение концентрации кислорода не влияет существенно на дыхание. Однако в атмосфере чистого кислорода интенсивность дыхания растений снижается, а при длительном его действии растение погибает. Гибель растения обусловлена усилением в клетках свободнорадикальных реакций и повреждением мембран вследствие окисления их липидов.

Углекислый газ является конечным продуктом дыхания. При высокой концентрации газа дыхание растений замедляется по следующим причинам: ингибируются дыхательные ферменты; закрываются устьица, что препятствует доступу кислорода к клеткам.

Температура. Дыхание некоторых растений идет и при температуре ниже 0 °С. Так, хвоя ели дышит при –25°С. Интенсивность дыхания, как всякой ферментативной реакции, возрастает при повышении температуры до определенного предела (35–40 °С).

Содержание воды. Водный дефицит растущих тканей увеличивает интенсивность дыхания из-за активации распада сложных углеводов (например крахмала) на более простые, которые являются субстратом дыхания. Однако при этом нарушается сопряжение окисления и фосфорилирования. Дыхание в этом случае представляет собой бесполезную трату вещества. Иная закономерность характерна для органов, находящихся в состоянии покоя. Повышение содержания воды в семенах приводит к резкому увеличению интенсивности дыхания.

Свет. Трудно выявить влияние света на дыхание зеленых растений, т. к. одновременно с дыханием осуществляется противоположный процесс – фотосинтез. Освещенность, при которой интенсивность фотосинтеза равна интенсивности дыхания по уровню поглощенного и выделенного углекислого газа, называют компенсационным пунктом. Дыхание незеленых тканей активируется светом коротковолновой части спектра, т. к. максимумы поглощения флавинов и цитохромов расположены в области 380–600 нм.

Минеральные вещества. Такие элементы, как сера, железо, медь, марганец, необходимы для дыхания, являются составной частью ферментов или (например, фосфор) промежуточным продуктом. При повышении концентрации солей в питательном растворе, на котором выращивают проростки, их дыхание активируется (эффект «солевого дыхания»).

Механическое повреждение усиливает дыхание из-за быстрого окисления фенольных и других соединений, которые выходят из поврежденных вакуолей и становятся доступными для оксидаз.

Изменение интенсивности дыхания в онтогенезе

На уровне целого растения дыхание является интегральным показателем, значение которого может сильно варьироваться, в зависимости от стадии онтогенеза растения и его органов и тканей. Наиболее высока интенсивность дыхания у молодых, активно растущих тканей (меристиматических и недифференцированных) и органов. После окончания роста интенсивность дыхания листьев снижается до уровня, равного половине максимального, и затем долго не меняется. При пожелтении листьев и в период, предшествующий полному созреванию плодов, у этих органов наблюдается активация синтеза этилена с последующим кратковременным усилением дыхания, которое называют климактерическим подъемом дыхания. Этилен увеличивает проницаемость мембран и гидролиз белков, что приводит к повышению содержания субстратов дыхания. Однако это дыхание не сопровождается образованием АТФ.

Интенсивность дыхания корней, как и листьев, по мере старения растений снижается. Динамика дыхания корня в онтогенезе растения аналогична динамике фотосинтеза целого растения, имеющей форму колоколообразной кривой с максимумом в фазе цветения генеративных органов.

Интенсивность дыхания в расчете на единицу массы целого растения уменьшается по мере старения, что объясняется как снижением интенсивности дыхания роста в результате уменьшения скорости роста, так и уменьшением интенсивности дыхания поддержания.

Раздел 6. Фотосинтез растений

Лекция 12. Общие представления о природе фотосинтеза и его роли в развитии биосферы

Определение понятия «фотосинтез»

Фотосинтез – это биологический процесс, в ходе которого энергия электромагнитного излучения превращается в химическую энергию органических соединений. Сначала свет поглощается молекулами пигментов в светособирающей антенне, затем происходит перенос энергии возбуждения к реакционному центру (особому связанному с мембраной молекулярному комплексу), который содержит хлорофилл (Хл) или бактериохлорофилл (БХл). Именно в реакционном центре (РЦ) происходит первичная фотохимическая реакция — перенос электрона от первичного донора, обозначаемого символами D или P, к акцептору А. Энергию света, запасаемую при разделе-

нии зарядов, растение использует для осуществления реакций электронного транспорта, которые дают энергию для синтеза устойчивых высокоэнергетических соединений (АТФ, НАДФН+Н, углеводов).

Развитие учения о фотосинтезе

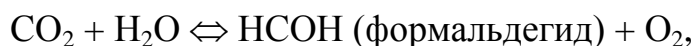
Процесс приобретения знаний в области фотосинтеза начался с первых количественных экспериментов Ван Гельмонта (начало XVII в.) по выращиванию ивы на песке, работ С. Гельса в 1727 г. и его труда «Статика растений», в котором утверждалось, что часть необходимого питания растения получают при помощи листьев из воздуха, исследования М. И. Ломоносова «Слово о явлениях воздушных» (1753). М. И. Ломоносов писал: «..ращение тучных дерев, которые на бесплодном песку корень свой утвердили, ясно изъясляет, что жирными листьями жирный тук из воздуха впитывают». Опыты Дж. Пристли в 1771 г. показали способность зеленых растений выделять на свету кислород, а опыты голландского врача И. Ингенхауза (1778–1779) доказали исключительную роль зеленых частей растений и света в выделении кислорода. В 1782 г. Ж. Сенебье установил факт выделения растениями кислорода только при условии наличия в воздухе углекислого газа.

В начале XIX в. Н. Соссюр количественно показал, что синтез органического вещества растениями осуществляется за счет углекислого газа и воды, и составил балансовое уравнение:

двуокись углерода + вода + свет → органическое вещество + кислород.

Французский химик, физиолог Ж. Б. Буссенго в 1840 г. усовершенствовал методы количественного анализа фотосинтеза. Немецкий ботаник Ю. Сакс (1832–1897) показал, что образование крахмала на свету идет за счет поглощенного углекислого газа. Немецкий ботаник В. Пфеффер (1845–1920) заложил основы энергетики фотосинтеза. Добени (1836) применил цветные экраны и показал неоднозначную роль различных участков света. В России А.С. Фаминцын (1835 – 1918) защитил докторскую диссертацию (1866) «Действие света на водоросли и некоторые другие близкие к ним организмы», первым указал на симбиотическую природу хлоропластов.

В 70-х годах XIX в. А.М. Бутлеров обнаружил, что при полимеризации формальдегида образуются сахароподобные вещества. На основе этих опытов Бойер вывел стехиометрическое уравнение фотосинтеза



которое фигурировало в учебниках почти 100 лет.

А. Н. Бах (1857–1946) в опытах 1893–1898 гг. установил, что фотосинтез представляет собой серию сопряженных окислительно-восстановительных реакций, в результате которых происходят как усвоение углекис-

слого газа, так и освобождение кислорода из воды с участием перекиси в качестве промежуточного продукта. В 1905 г. Ф. Блекман изучал световые, температурные и углекислотные кривые ассимиляции CO_2 и сформулировал фундаментальное положение: «Фотосинтез состоит из световой и темновой фаз». В 1910 г. М. С. Цвет показал, что две близкие по химическому составу формы хлорофилла *a* и *b* можно разделить хроматографией.

Широко известны слова К. А. Тимирязева о роли хлорофилла в поглощении света и космической роли зеленых растений (работы «Значение лучей различной преломляемости в процессе разложения углекислоты рутениями (1869); «Солнце, жизнь и хлорофилл» (1920). В 1881 г. русский химик И. П. Бородин получил кристаллический хлорофилл, а биохимик М. В. Ненцкий в 90-х гг. XIX века установил близость химической структуры хлорофилла и гема. В 1913 г. Вильштеттер расшифровал структуру хлорофилла, а в лаборатории Фишера были осуществлены основные этапы синтеза этого соединения, блестяще завершенные Вудвордом.

Д. И. Ивановский в период 1907–1920 гг. изучал физико-химические свойства пигментов пластид и их связь с поглощением света. В 1919 г. О. Варбург применил свой известный манометрический метод для изучения фотосинтеза. В 1926–1928 гг. С. П. Костычев определил суточный ход фотосинтеза и заложил основы экологии фотосинтеза. В 1931 г. К. Ван-Ниль в опытах с пурпурными серобактериями показал, что в процессе фотосинтеза происходит фотовосстановление, а не фоторазложение CO_2 и единственной фотохимической реакцией является фотолиз воды. В 1932 г. Эмерсон и Арнольд ввели представление о фотосинтетических реакционных центрах.

30-е годы XX века. А. А. Рихтер изучал хроматическую и световую адаптацию морских водорослей. В 1933 г. Каутский и Хирш обнаружили индукцию флюоресценции у зеленой водоросли хлореллы и связали ее с индукцией фотосинтеза. В 1935 г. В. Н. Любименко выпустил монографию «Фотосинтез, хемосинтез в растительном мире». В 1937 г. Р. Хилл выделил изолированные хлоропласты и показал, что выделение кислорода можно осуществить без восстановления углекислого газа в восстановления солей железа ($\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$) (реакция Хилла). Рубен начал изучение химизма фотосинтетического восстановления углекислого газа с помощью изотопов C^{11} . Первый этап усвоения CO_2 – нефотохимическая ферментативная реакция карбоксилирования.

40-е годы XX века. В 1941 г. Ван-Ниль выдвинул предположение о глубоком сходстве фотохимических процессов у растений и бактерий. Одновременно А. П. Виноградов и Р. В. Тейс изучили изотопный состав кислорода, выделяемого растениями при фотосинтезе. Вывод – кислород освобождается из воды, а не из углекислого газа. В 1944 г. Гаффрон со своими сотрудниками показал, что водоросли в водородной среде переходят в бактериальную форму фотосинтеза.

50-е годы XX века. На русский язык переведен трехтомный обзор Е. Рабиновича (1951). В 1952 г. Дюйзенс обнаружил перенос энергии от фикоби-

линов к хлорофиллу. В 1954 г. Кандлер и Френкель Арнон обнаружили циклическое фотосинтетическое фосфорилирование. В 1954 г. Арнон постулировал: весь процесс фотосинтеза происходит в хлоропластах. В 1954–1957 гг. Кальвин, Бенсон, Бассем определили последовательность реакций восстановительного цикла углерода. В 1956 г. Арнон показал возможность нециклического фотофосфорилирования.

60-е годы XX века. В 1961 г. М. В. Келдыш президент АН СССР, определяя перспективы, отметил: «Наука должна достигнуть решительных успехов в области познания фотосинтеза и подготовки к осуществлению искусственных фотосинтетических процессов вне растений».

С середины XX века изучению фотосинтеза способствовали новые методы исследования (газовый анализ, изотопные методы, спектроскопия, электронная микроскопия и др.). На их основе сформированы представления о: механизмах участия хлорофилла в фотосинтезе (А. Н. Теренин, А. А. Красновский, американские учёные Е. Рабинович, В. Кок, У. Арнолд, Р. Клейтон, Дж. Франк, Дж. Лаворель); окислительно-восстановительных реакциях и существовании двух фотохимических реакций (Р. Хилл, С. Очоа, В. Вишняк, Р. Эмерсон, Френч, Л. Дейсенс); фотосинтетическом фосфорилировании (Д. Арнон); путях превращения углерода (М. Калвин, Дж. Бассам, Э. Бенсон, М. Хетч и К. Слэк); механизме разложения воды (В. Кок, А. и П. Жолио, В. М. Кутюрин и др.); справедливости хемиосмотической гипотезы Митчелла в отношении фотофосфорилирования хлоропластов (Ягендорф, Витт, Аврон); кооперативном фотосинтезе, или C_4 – метаболизме у кукурузы, сахарного тростника, сорго (Карпилов, Коршак, М. Хэтч и К. Слэк). В 1962 г. Сисакян и Литлтон, независимо друг от друга, обнаружили в хлоропластах рибосомы. В 1966 г. Мюлеталер начал исследования ультраструктуры мембран тилакоидов. В 1968 г. Толберт открыл пероксисомы в листьях.

К концу шестидесятых годов XX в. основные процессы фотосинтеза были изучены. Начался этап внедрения полученных результатов для решения пищевых, технических и биосферных проблем.

Краткий систематический обзор фотосинтетиков

Фотосинтетики – автотрофные организмы, которые встречаются в надцарстве Доядерных организмов (Procaryota), в частности в его подцарствах Бактерии (Bacteriobionta) и Цианеи (или сине-зеленые водоросли), т. е. Cyanobionta, в надцарстве Ядерные организмы (Eucaryota), царстве Растений (Plantae), в которое входят подцарства Багрянки (Rhodobionta), Настоящих водорослей (Phycobionta) и Высших растений (Embryobionta). У всех представителей царства Растений клетки имеют плотную клеточную стенку, запасным веществом является крахмал.

В подцарстве Бактерии (Bacteriobionta) описано более 50 видов пурпурных и зеленых бактерий, объединенных в порядок Rhodospirillales. Подпорядок Rhodospirillineae (пурпурные бактерии) включает семейство Rhodos-

pirillaceae (несерные пурпурные бактерии, 4 рода *Rhodocyclus*, *Rhodomicrobium*, *Rhodopseudomonas* и *Rhodospirillum*); семейство Chromatiaceae (пурпурные серобактерии), 9 родов *Chromatium*, *Ectothiorhodospira*, *Lamprocystis*, *Thiocapsa*, *Thiocystis*, *Thiodictyon*, *Thiopedia*, *Thiosarcina* и *Thiospirillum*).

Подпорядок Chlorobiineae (зеленые бактерии) включает семейство Chlorobiaceae (зеленые серобактерии, 5 родов *Ancalochloris*, *Chlorobium*, *Clathrochloris*, *Pelodictyon* и *Prosthecochloris*), семейство Chloroflexaceae (несерные зеленые бактерии, 3 рода *Chloroflexus*, *Chloronema* и *Oscillochloris*).

Зеленые серобактерии встречаются в сероводородных средах. Фотосинтез ограничен фоторедукцией CO₂ сероводородом. Окисление происходит только до элементарной серы. Прочие соединения серы, а также органические вещества не используются в качестве водородных доноров. Эти бактерии не нуждаются в органических ростовых факторах.

Пурпурные серобактерии (Thiorhodoeae) от пурпурного до красного цвета обычно встречаются в средах, содержащих сульфиды. Способны окислять различные неорганические соединения серы до сульфатов с одновременным восстановлением CO₂. Могут использовать различные органические вещества, особенно низшие жирные кислоты, вместо сульфидов (в качестве водородных доноров). Некоторые виды способны также усваивать молекулярный водород. Не нуждаются в органических ростовых факторах.

Пурпурные несеробактерии (Athiorhodaeae) имеют пурпурную, красную или бурую окраску, в зависимости от природы каротиноидов. Встречаются преимущественно в средах, содержащих органические соединения. Способны к фотохимическому восстановлению CO₂ большим числом различных органических восстановителей; некоторые виды могут использовать молекулярный водород. Рост зависит от присутствия органических веществ (например дрожжевых экстрактов), предположительно дающих необходимые органические ростовые факторы, в небольшом количестве.

У представителей подцарства Цианей (Cyanobionta) хлорофилл представлен хлорофиллом *a*. Дополнительные пигменты – фикобилины.

В составе подцарства Багрянок (Rhodobionta) – растения с хлорофиллом *a*, редко с хлорофиллом *d*, фикоэритрином и фикоцианином, но без хлорофилла *c*. В составе надцарств Настоящих водорослей (Phycobionta) и Высших растений (Embryobionta) растения с хлорофиллами (*a*+*c*) (*a*+*b*), но без хлорофилла *d*.

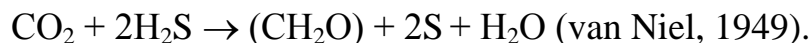
Основные балансовые уравнения фотосинтеза

Балансовое уравнение процесса оксигенного фотосинтеза, осуществляемого зелеными растениями водорослями и цианобактериями, –

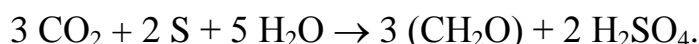


где (CH₂O) – условное обозначение образующегося при фотосинтезе органического вещества (1/6 часть молекулы глюкозы). Акцептором водорода в данном уравнении выступает углекислый газ.

Балансовые уравнения бактериального фотосинтеза различаются. У пигментированных серобактерий донором водорода является сероводород:



Когда сероводород в среде почти исчерпан, бактерии начинают окислять серу до сульфатов согласно реакции



В минерализованных водах, где распространены пурпурные и зеленые серные бактерии, серная кислота вступает в реакции с ионами металлов, образуя сульфаты. Приведенными уравнениями не исчерпывается многообразие возможных путей восстановления углекислого газа. В качестве донора водорода могут выступать сульфит и тиосульфат. Восстановление углекислого газа серными и несерными пурпурными бактериями может идти при участии молекулярного водорода:



Фотосинтез бактерий имеет аноксигенный характер. Ван Ниль предложил общую формулу для процесса усвоения углекислого газа на свету разными организмами



где H₂A – универсальный донор водорода.

Структурная организация фотосинтетического аппарата прокариот и эукариот

Балансовые уравнения не раскрывают всей сложности реакций, объединенных понятием «фотосинтез». Процесс протекает в специализированных клетках, главным отличием которых являются фотосинтетические пигменты. Клетки прокариот – наиболее просто организованные автономные фотосинтезирующие структуры. Мембраны, обеспечивающие протекание связанных с поглощением света процессов фотосинтеза, не обособлены в органеллы и в отсутствие света могут переключаться на дыхание. У цианобактерий тилакоиды заполняют большую часть клетки и не организованы в граны. Фикобилины в комплексе с белками образуют на тилакоидах поверхностные структуры – фикобилисомы. У фотосинтезирующих бактерий хроматофоры представляют собой везикулярные образования.

Фотосинтезирующие клетки эукариот обязательно имеют в своем составе органеллы – хлоропласты или хроматофоры. Хлоропласты способны выполнять весь комплекс процессов фотосинтеза, связанных с поглощением света, и основную часть ферментативных реакций, обеспечивающих ассимиляцию углекислого газа. Однако весь комплекс ферментативных реакций фотосинтеза требует кооперации хлоропластов (кооперативный фотосинтез у C_4 – растений) или хлоропластов, митохондрий, глиоксисом и пероксисом (у C_3 – растений при фотодыхании).

У большинства растений хлоропласты имеют форму эллипсоида, окружены двойной мембраной. Внутри хлоропласта расположены пигментсодержащие мембраны, образующие замкнутые полости, «мешки», или тилакоиды. Свободное от тилакоидов пространство внутри хлоропласта называется стромой. Собранные в «стопки» тилакоиды образуют граны и могут называться тилакоидами гран. Свободно расположенные тилакоиды называют тилакоидами стромы. Хлоропласты, в которых есть граны, относят к гранальному типу, а те, в которых есть только тилакоиды стромы – к агранальному типу. Хлоропласты имеют кольцевую ДНК и все необходимые для синтеза белка компоненты. Геном хлоропластов кодирует лишь часть необходимых белков; другую часть кодирует ядерный геном фотосинтезирующей клетки. Хлоропласты возникают *de novo* из инициальных частиц, а также могут размножаться путем простого деления.

Роль фотосинтеза в процессах энергетического и пластического обмена растительного организма

У водорослей и высших растений основными конечными продуктами фотосинтеза являются углеводы. Углеводы легко вовлекаются в процесс дыхания и таким образом обеспечивают энергетический обмен клетки. Среди продуктов фотосинтеза наиболее распространены сахароза и крахмал. Крахмал накапливается в фотосинтезирующих клетках в виде нелабильных крахмальных зерен. Сахароза может вовлекаться в систему дальнего флоэмного транспорта.

Ферментные системы синтеза сахарозы и крахмала конкурируют между собой за субстрат – глюкозо-6-фосфат. Кроме сахарозы и крахмала углерод C^{14} из молекулы углекислого газа обнаруживают в глюкозе и фруктозе.

В условиях низких концентраций углекислого газа в атмосфере и высокой инсоляции в хлоропластах активируется гликолатный путь (фотодыхание). С участием митохондрий на этом пути образуются аминокислоты глицин и серин.

Синтез аминокислот (аланина, серина, аспарагиновой, глутаминовой) может осуществляться на основе промежуточных продуктов восстановительного цикла. В синтезе аминокислот участвует фосфоглицериновая кислота, которая превращается в ФЕП, затем – в пируват. Путем β -карбоксилирования идет серия ферментативных реакций превращения четырехуглеродных ди-

карбоновых кислот (ЩУК, янтарная, яблочная). Фиксация углекислого газа через реакции β -карбоксилирования кетокислот может составлять до 20–30 % от всего ассимилированного углерода.

В целом, продукты фотосинтеза относятся к углеводам, органическим кислотам и аминокислотам. Они могут быстро использоваться в реакциях синтеза липидов, белков и нуклеиновых кислот.

Масштабы фотосинтетической деятельности в биосфере. Эволюция биосферы и фотосинтез

В процессе фотосинтеза на Земле первично создаются органические вещества, используемые в дальнейшем в качестве пищи, кормов, горючего, промышленного сырья и т. д. Как видно из общего уравнения, фотосинтез включен в глобальный газообмен на планете, обеспечивая необходимый для жизни уровень кислорода, а также необходимый для биосферы в целом уровень углекислого газа.

Подсчет общего количества органического вещества, образуемого в ходе фотосинтеза, возможен с точностью до тонны, когда расчет идет на 1 км^2 , и до миллиарда тонн ($t \times 10^9$) для всей планеты. В среднем на 1 км^2 суши приходится 110 т углерода в год. С поправкой на дыхание (15 %) валовый фотосинтез составит 130 т углерода/ км^2 год. Распределение валовой первичной продукции по компонентам биосферы (суша, вода) и компонентам суши (лес, культурная земля, степь и др.) показано на слайде 12.8. В 1926 г. Костычев показал, что максимальная суточная производительность фотосинтеза ($10\text{--}25 \text{ г/м}^2$) – у пустынных ксерофитов и растений влажных субтропиков, минимальная – у растений средней полосы ($4\text{--}6 \text{ г/м}^2$).

Фотосинтетическая продукция в последние десятилетия находится под пристальным вниманием ученых в связи с угрозой развития парникового эффекта. Полученные за эти годы результаты позволили в ряде случаев изменить расчетные величины. Для глобального баланса углерода оказался важным не валовый, а чистый фотосинтез.

По этому показателю тайга и растительность болот существенно опережают тропическую растительность. Одна тонна органического углерода аккумулирует приблизительно 10^7 ккал световой энергии. Это составляет 0,02–0,03 % от световой энергии в области ФАР.

Очевидно, что фотосинтез с момента своего возникновения играет ключевую роль в эволюции биосферы. Определяющими состоянием биосферы параметрами являются количество запасенного органического вещества (валовая первичная продукция), количество выделившегося кислорода, балансовый уровень углекислого газа в атмосфере (глобальная температура, глобальный климат).

Глобальная модель климата показывает, что после мелового периода (144–66 млн лет назад) уровень CO_2 снизился от 2800 ppm до 1000 ppm и оставался таким в эоцене (37–58 млн лет назад); в последующие 40 млн лет концентрация CO_2 продолжала снижаться сначала до 500 ppm, а затем – до 180–220 ppm (в плейстоценовую эпоху). В 1997 г. Cerling et al. предположил, что C_4 – растения начали глобальную экспансию 5–7 млн лет назад, когда уровень CO_2 составлял 500 ppm. Современный уровень 330–360 ppm. Падение концентрации CO_2 привело к снижению эффективности C_3 фотосинтеза и усилению фотодыхания, в ходе которого может «теряться» до 50 % ассимилированного углерода.

Это послужило эволюционным стимулом для создания CO_2 – концентрирующего механизма. Первыми проблему увеличения концентрации CO_2 в клеточном пространстве, где локализован фермент Рубиско, решили цианобактерии и водоросли. За ними последовали высшие растения. Около 13 млн лет назад в условиях тропического климата произошел переход к C_4 – пути метаболизма. В результате возник механизм концентрации CO_2 , который обеспечил оптимальные условия для фермента Рубиско (1000–3000 ppm).

Лекция 13. Пигменты фотосинтеза

Хлорофиллы: химическая структура, спектральные свойства, функции

Хлорофилл в хлоропластах появляется в процессе зеленения пластид. У высших растений и водорослей встречаются хлорофиллы, *a*, *b*, *c*, *d*, *e*. Только хлорофилл *a* присутствует во всех перечисленных группах. Эмпирическая формула хлорофилла *a* $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$.

По химической природе молекула хлорофилла состоит из порфиринового кольца (тетрапиррола) в составе дикарбоновой кислоты – хлорофиллина, этерифицированной остатком метилового спирта и высокомолекулярного одноатомного спирта – фитола:



Пиррольные кольца в ядре хлорофилла обозначены римскими цифрами (I–IV), а углеродные атомы ядра – арабскими цифрами (1–8). Атомы углерода 9 и 10 входят в состав циклопентанового кольца. Углеродные атомы метиновых мостиков ($=\text{C}-$), соединяющих пиррольные кольца, обозначены греческими буквами (α , β , γ , δ). У хлорофилла *a* в пиррольном кольце II метильная группа при C_3 заменена альдегидной. Его эмпирическая формула – $\text{C}_{55}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_4\text{Mg}$. При потере магния хлорофилл превращается в феофитин, магния и фитола – в феофорбид, только фитола – в хлорофиллид.

Ядро хлорофилла обладает гидрофильными свойствами, остаток фитола – гидрофобными свойствами. Это позволяет молекуле хлорофилла

взаимодействовать как с белками, так и с липидами. Хлорофиллы легко растворимы в ацетоне, серном эфире, этаноле, метаноле, сероуглероде, бензоле, плохо растворимы в петролейном эфире.

Спектры поглощения хлорофиллов *a* и *b* в этиловом эфире имеют следующие особенности. Их максимумы поглощения в синей части спектра (полоса Соре) 428,5–430 нм и 452,5–455 нм, в красной части спектра 660–662 нм и 642–649 нм. Положение красного максимума зависит от природы растворителя. С ростом показателя преломления максимум поглощения смещается в длинноволновую область (в метаноле с $n_D^{20} = 1,3288$ максимум 665,7 нм; в сероуглероде с $n_D^{20} = 1,6295$ максимум 672,2 нм).

Хлорофилл *c* дополняет хлорофилл *a* во многих отделах водорослей (диатомовых, динофитовых, хризифитовых). По химической природе он представляет собой смесь хлорофиллидов *a* и *b*, которые отличаются наличием этильной или винильной группы у C_4 в порфириновом кольце II. Максимумы поглощения хлорофилла в 80 %-ном ацетоне – 446 нм и 631 нм. Интенсивность красной полосы слабая.

Хлорофилл *d* дополняет хлорофилл *a* у некоторых красных и хризифитовых водорослей. Хлорофилл *d* можно рассматривать как производную от хлорофилла *a*, в молекуле которого винильная группа при C_2 заменена на формильную группу. Положение максимумов поглощения в диэтиловом эфире – 445 нм и 686 нм.

Пигменты порфиринового ряда у фотосинтезирующих бактерий называют бактериохлорофиллами и в зависимости от химической структуры обозначают буквами *a*, *b*, *c*, *d*. Бактериохлорофилл *a* обнаружен у серных и несерных пурпурных бактерий, а также в небольшом количестве у зеленых бактерий. Бактериохлорофилл *b* – у серных и несерных пурпурных бактерий. Бактериохлорофиллы *c* и *d* у зеленых бактерий.

Бактериохлорофилл *a* отличается от хлорофилла *a* тем, что винильная группа при C_2 замещена на ацетильную (прибавлен один атом кислорода), во II пиррольном кольце гидрирована двойная связь между C_3 и C_4 (прибавлены два атома водорода). Длинноволновый максимум поглощения в растворе находится в области 770–780 нм. Подобно хлорофиллу, бактериохлорофилл дает производные: бактериохлорофиллид, бактериофеофитин, бактериофеофорбид.

Длинноволновый максимум поглощения бактериохлорофилла *b* сдвинут на 10–20 нм по сравнению с бактериохлорофиллом *a*.

Бактериохлорофилл *c* этерифицирован не фитолом, а спиртом транс – фарнезолом ($C_{15}H_{25}OH$). В положении C_2 вместо винильной группы находится оксиэтильная группа. В положении C_{10} вместо карбоксильной группы – атом водорода. В спектре поглощения хлорофилла *c* в диэтиловом эфире максимумы расположены при 432 и 663 нм, в спектре хлорофилла *d* – при 425 и 653 нм.

Общим свойством для всех порфириновых пигментов является способность к флюоресценции в красной (ближней инфракрасной) области спектра. Максимум флюоресценции смещен в длинноволновую сторону по отноше-

нию к длинноволновому максимуму поглощения. Квантовый выход достигает десятков процентов в органических растворителях и снижается до нескольких процентов или до нуля в живых клетках.

В физиологических исследованиях важным показателем является отношение вспомогательных хлорофиллов (*b*, *c*, *d*) к хлорофиллу *a*, которое характеризует степень адаптации к низкому уровню облученности.

Фотохимическую функцию в составе реакционных центров выполняют хлорофилл *a* и бактериохлорофилл *a*, а также их феопроизводные. Антенную функцию (поглощение и передача энергии к пигменту реакционного центра) выполняют вышеперечисленные зеленые пигменты.

Основные этапы биосинтеза молекулы хлорофилла

Предшественником всех хлорофиллов является δ -аминолевулиновая кислота (δ АЛК). Известны два метаболических пути образования δ АЛК: путь Шемина и путь Биле. Оба пути функционируют в растениях. В основе пути Шемина у животных, бактерий, эвглен и грибов – конденсация сукцинил-СоА и глицина с образованием α -амино- β -кетoadипиновой кислоты. Глицил – радикал немедленно декарбоксилируется в δ АЛК. Реакцию катализирует АЛК-синтетаза. Активность АЛК-синтетазы обнаружена в хлоропластах. Однако доля δ АЛК, синтезированной из глицина, крайне мала по сравнению со всей δ АЛК, участвующей в синтезе тетрапиррола.

Путь Биле катализируют ферменты, часть которых растворены в строме хлоропластов, а другие тесно связаны с мембранами. В 1974 г. Биле и Кастелфранко показали, что глутамат и α -кетоглутарат являются субстратами для синтеза δ АЛК. Путь Биле обнаружен в хлоропластах высших растений, водорослях, включая эвглену, фотосинтезирующих и нефотосинтезирующих бактериях.

Активация глутамата. Было доказано, что биосинтез δ АЛК зависит от tRNA. Это подтвердило гипотезу Гассмана и Богорада (1967) об участии нуклеиновых кислот в биосинтезе хлорофилла. Путем секвенирования было показано, что t-РНК имеет антикодон УУЦ, специфичный к глутамину. Глутамат t-РНК-лигаза, кодируемая ядерным геном, катализирует присоединение t-РНК к первому углероду глутамата. В качестве кофакторов используется ион магния и АТФ.

Глутамил-t-РНК комплекс превращается в глутамат 1-семиальдегид (Г1СА) с участием оксидоредуктазы с кофактором НАДФН. Превращение Г1СА в δ АЛК катализируется витамином B₆ и пиридоксальфосфатзависимым ферментом – ГСА-аминотрансферазой. Некоторые авторы допускают наличие промежуточных соединений. Также предполагают, что δ АЛК возникает в результате неферментативной конденсации двух молекул ГСА. Реакции от δ АЛК до протопорфирина IX являются общими при биосинтезе хлорофилла и гема.

Порфобилиноген (ПБГ) образуется в реакции асимметричной конденсации двух молекул δ АЛК с освобождением двух молекул воды. Фермент АЛК-дегидратаза связан с металлом: с цинком у бактерий и с магнием у растений. Ингибируется кадмием и свинцом.

В образовании уропорфириногена III участвуют два фермента: ПБГ-деаминаза и УроIII-синтетаза. Полимеризуются четыре молекулы ПБГ с образованием линейного и очень лабильного тетрапиррола (первый фермент); замыкается в кольцо вторым ферментом. УроIII-синтетаза очень нестабильна даже при комнатной температуре.

Образование копропорфириногена III катализируется ферментом уродекарбоксилазой, который кодируется геном *hem12*. Образование протопорфириногена IX происходит при окислительном декарбоксилировании двух пропионовых остатков в А и В кольцах копрогена-III с участием копрогеноксидазы, и образуется дивинилпротопорфириноген 9 (DV-протоген 9). Возможен также выход моновинилпротопорфирина 9 (MV-протоген 9).

Образование протопорфирина IX происходит в результате удаления шести электронов из ППГ-IX.

На этапе от протопорфирина к протохлорофиллиду происходит захват иона магния (фермент магний-хелатаза связан с мембраной и требует АТФ). Этерификация магний-протопорфирина-9 в магний – протопорфирин-9 монометилловый эфир, образование изоциклического кольца приводят к образованию протохлорофилла. Свойственно хлорофиллам.

Протохлорофилл описывают в двух формах: моновинильной и дивинильной. Выделяют следующую группу растений: накапливающие дивинил в темноте и на свету (огурцы, хвойные); содержащие моновинильную форму в темноте и дивинильную на свету (однодольные, бобы); синтезирующие дивинильную форму в темноте и моновинильную на свету (виола, гинкго); имеющие только моновинильную форму (яблоня). По-видимому, на самом деле в каждом растении присутствуют обе формы, но в разной пропорции и в зависимости от стадий развития растений. Хорошо известно, что покрытосеменным растениям необходим свет для синтеза хлорофилла, тогда как остальные способны к его синтезу и в темноте.

На последнем этапе биосинтеза протохлорофиллид превращается в хлорофилл *a*.

Для световой трансформации протохлорофиллида в хлорофиллид с участием НАДФН-зависимой фотооксидоредуктазы достаточно 10-микросекундной вспышки. Кодируется ядерной ДНК. Действительным субстратом является возбужденный протохлорофиллид. Фотоактивный протохлорофиллид существует в двух промежуточных комплексах (P638-642 и P650-657), причем второй преобладает. Фотоактивный протохлорофиллид имеет одну полосу флуоресценции при 657 нм. Фотонеактивный протохлорофиллид назван так, поскольку превращается в хлорофиллид не очень быстро.

Первым продуктом фоторедукции является хлорофиллид (C676-688) после присоединения двух остатков водорода в 17 и 18 позициях. После его образования развиваются два различных спектральных сдвига (шифта). Первый из них (коротковолновый) происходит через несколько секунд с образованием C670-675, что объясняют отделением хлорофиллида от фермента. Это главный сдвиг в пропластидах.

Второй сдвиг в длинноволновую область происходит обычно за 30 секунд. Конечный продукт – хлорофиллид в комплексе с НАДФ и ферментом. Этот сдвиг обычно бывает у этиопластов. После длинноволнового сдвига в поглощении и флюоресценции максимум хлорофиллида претерпевает другой сдвиг в коротковолновую сторону (C672-682) в течение 30 минут. Это хорошо известный сдвиг Шибата (1957) за счет разделения хлорофиллида и фермента. Во время сдвига хлорофиллид интенсивно этерифицируется геранилгераноил – пирофосфатом, который через дигидрогеранилгераноил и тетрадигидрогеранилгераноил превращается в фитол (хлорофилл-синтетаза). Превращением форм хлорофилла занимались Красновский, Литвин, Богорад, Шлык.

Независящая от света реакция восстановления протохлорофиллида с участием НАДФ существует у хламидомонады, родобактера, цианобактерии.

Хорошо известно, что хлорофилл на свету деградирует и должен постоянно синтезироваться *de novo*. Удивительно, что образование хлорофиллида из протохлорофиллида происходит одинаково в зеленеющих и зеленых листьях. Спектр живого листа зависит от присутствия различных форм хлорофилла и каротиноидов.

В полной темноте листья или проростки накапливают небольшие количества протохлорофиллида. Это показывает, что все ферменты активны. Длительное пребывание в темноте (более шести дней у однодольных и десяти дней у двудольных растений) приводит к постепенному уменьшению содержания протохлорофиллида (вероятно, в результате ингибирования реакции синтеза гема АЛК протохлорофиллидом).

Во время зеленения, когда этиолированные листья попадали на свет, фотоактивный пул прохлорофиллида восстанавливался до хлорофиллида. Образование хлорофилла на свету имеет лаг – фазу, за время которой активируется АЛА-синтетаза. В зеленеющих листьях и проростках диурон ингибирует синтез хлорофилла (вероятно, опосредованно, через ТФ и окислительно-восстановительное состояние переносчиков). Абсцизовая кислота подавляет синтез хлорофилла и действует как антагонист цитокинина. Бензиладенин устраняет лаг-фазу образования хлорофилла, вероятно стимулируя синтез АЛК. В регуляции синтеза хлорофилла принимает участие фитохромная система.

Хлорофилл-белковые комплексы

В фотосинтетические мембраны хлорофилл входит в составе хлорофилл-белковых комплексов. В настоящее время известно около десятка хлорофилл-белковых комплексов с различной молекулярной массой и спектральными характеристиками поглощения и флюоресценции. Хлорофилл-белковые комплексы двух фотосистем интегрированы в мембраны тилакоида (мембраны стромы и мембраны гран). Светособирающий хлорофилл-белковый комплекс расположен на периферии, обеспечивает гранальную структуру хлоропластов и участвует в регуляции распределения энергии возбуждения между двумя фотосистемами.

Фикобилины: распространение, химическое строение, спектральные свойства, роль в фотосинтезе

У красных, криптофитовых водорослей и цианобактерий функцию светособирающих пигментов выполняют фикобилины: фикоэритрин, фикоцианин и аллофикоцианин. Фикоцианины и фикоэритрин, принадлежащие цианобактериям, обозначают буквой С, а принадлежащие красным водорослям – буквой R.

Фикобилины относятся к билипротеинам (комплекс белка с желчным пигментом). По химическому строению фикобилины – это производные тетрапирролов, не замкнутые в кольцо и не связанные с атомом магния. Белки в составе фикобилинов относятся к глобулинам. С одной стороны, связь пигментов с белками прочная и не разрывается органическими растворителями. С другой стороны, фикобилины легко извлекаются водой. Водные экстракты фикобилинов в видимой части спектра имеют характерные максимумы: фикоэритрин – 497 и 562 нм; фикоцианин – 552 и 615 нм; аллофикоцианин – 650 нм. Фикобилины флуоресцируют как в интактных клетках, так и в экстрактах пигмента.

Каротиноиды: химическое строение, спектральные свойства, функции

Каротиноиды представляют большую группу желтых, оранжевых, бурых пигментов. Это полиеновые соединения, часто с 40 атомами углерода. Различают каротины (состоят из углерода и водорода) и ксантофиллы (состоят из углерода, водорода и кислорода). В зависимости от строения концевых групп, различают циклические и ациклические каротиноиды.

Среди них есть ациклические (ликопин), моноциклические (лютеин) и дициклические (β -каротин, α -каротин, зеаксантин), кислородсодержащие би-

циклические ксантофиллы – виолксантин и неоксантин. Количество и положение максимумов во многом зависит от растворителя. Диапазон длин волн, в котором у каротиноидов имеются максимумы поглощения, от 420 до 550 нм. Состав каротиноидов и их соотношение во многом уникально. Это позволяет использовать каротиноиды в новом направлении систематики – хемосистематике.

Биосинтез каротиноидов начинается с ацетата. Начальный этап – образование мевалоновой кислоты; затем следует образование изопреноидных цепей. Ключевым моментом в синтезе каротиноидов является образование фитоина. На его основе в дальнейшем происходит образование ациклических, циклических и кислородсодержащих каротиноидов.

Лекция 14. Первичные процессы фотосинтеза

Поглощение света и передача энергии возбуждения

Преобразование световой энергии в химическую энергию продуктов фотосинтеза происходит последовательно. Первая стадия (фотофизическая), 10^{-15} – 10^{-9} с, заключается в поглощении света молекулами пигмента и в миграции поглощенной энергии к молекулам пигмента в составе реакционных центров. В реакционных центрах происходит фотохимическая стадия, в результате которой энергия запасается в форме восстановленных первичных акцепторов электрона (10^{-8} – 10^{-4} с). Химический потенциал восстановленных первичных акцепторов расходуется на образование АТФ и НАДФН+Н, которые считаются основными продуктами световых реакций. Энергия продуктов световых реакций используется в темновой (физиологической) фазе фотосинтеза на синтез органических соединений и регенерацию акцептора углекислого газа.

В фотофизических реакциях передачи энергии между пигментами и в фотохимических реакциях передачи электронов принимают участие возбужденные молекулы пигментов. При возбуждении происходит переход электронов на более высокий энергетический уровень. У хлорофиллов, фикобилинов и каротиноидов при поглощении кванта света в возбужденное состояние переходят π -электроны, участвующие в образовании двойной связи. Особенно легко возбуждаются π -электроны сопряженных двойных связей. В этом случае можно говорить о делокализации π -электронов. Система сопряженных двойных связей при поглощении кванта света образует резонатор, способный обмениваться энергией с другими резонаторами (молекулами пигмента).

Возбужденное состояние электронов и пути дезактивации

Основное невозбужденное состояние π -электронов в молекуле хлорофилла – синглетное. Возбужденное состояние S^*_2 достигается при поглоще-

нии квантов синего света, состояние S^*_1 – при поглощении квантов красного света. Переход $S^*_2 \rightarrow S^*_1$ сопровождается выделением тепла. Переход $S^*_1 \rightarrow S^*_0$ сопровождается выделением тепла и испусканием кванта света флюоресценции в красной области спектра. Энергия S^*_1 может также расходоваться в фотохимической реакции восстановления акцептора электронов (либо на возбуждение другой молекулы пигмента). В растворе у молекулы хлорофилла возможен синглет-триплетный переход электрона $S^*_1 \rightarrow T^*_1$, а из T^*_1 в S^*_0 (с испусканием тепла или кванта фосфоресценции).

Перенос энергии возбуждения между молекулами хлорофилла, а также между молекулами фикобилинов характеризуется высокой эффективностью и скоростью. Обсуждаются экситонный и индуктивно-резонансный механизмы передачи энергии возбуждения между пигментами. Экситонный перенос энергии, т. е. ненаправленный (блуждающий), происходит в системе идентичных молекул типа молекулярных кристаллов со скоростью 10^{12} с^{-1} . По индуктивно-резонансному механизму Ферстера-Галанина скорость переноса сопоставима со скоростью излучательной дезактивации энергии возбуждения (10^9 с^{-1}) и направлена от коротковолновых форм пигмента к длинноволновым формам.

Эффективность индуктивно-резонансной передачи энергии возбуждения пропорциональна интегралу перекрытия спектров поглощения и флюоресценции. Эффективность переноса энергии от хлорофилла *в* или *с* на хлорофилл *а* близка 100 %. В случае сложных молекул пигмента на эффективность передачи энергии возбуждения большое влияние оказывают расстояние и взаимная ориентация молекул. Эффективность переноса энергии от каротиноидов на хлорофилл не одинакова: от 50 % у β -каротина до 90 % у фукоксантина. Перенос энергии между фикобилинами достигает 80 %. При этом часть не использованной фикобилинами энергии возбуждения расходуется в безызлучательном и излучательном вариантах дезактивации энергии возбуждения. Хлорофилл-белковые комплексы позволяют повысить эффективность переноса энергии возбуждения.

Представление о фотосинтетической единице

По степени взаимодействия пигментов между собой и с реакционным центром в составе фотосистемы № 2 выделяют уни- и мультицентральные модели. Кроме того, возможен перенос энергии от коротковолновых форм хлорофилла фотосистемы № 2 к длинноволновым формам фотосистемы № 1 и от светособирающего хлорофилл *а/в* комплекса к хлорофилл-белковым комплексам обеих фотосистем. Распределение энергии между хлорофилл-белковыми комплексами изменяется в ходе световых онтогенетических адаптаций (длительная регуляция) и светозависимых структурных изменений хлоропластов (быстрая регуляция). В последнем случае в процесс регуляции вовлекаются процессы образования и расходования протонного градиента,

транспорт ионов через мембраны тилакоидов, фосфорилирование и дефосфорилирование белков светособирающего комплекса.

Представления о существовании фотосинтетических единиц (ФСЕ) сформировались на основе работ Эмерсона и Арнольда (1932). Ими впервые было показано, что в выделении одной молекулы кислорода в процессе фотосинтеза участвуют от 2000 до 2500 молекул хлорофилла. Эта величина и получила название «фотосинтетическая единица». В экспериментах Эмерсона и Арнольда суспензию зеленой одноклеточной водоросли хлореллы освещали импульсным светом и сопоставляли количество выделившегося кислорода на одну вспышку и количество хлорофилла. Длина импульса составляла 10^{-5} с, а ее интенсивность была насыщающей.

В этих условиях фотосинтетическая единица могла прореагировать только один раз. В этих условиях число фотосинтетических единиц (ФСЕ) равно количеству выделившихся молекул кислорода. Разделив весь участвовавший в выделении кислорода хлорофилл на количество ФСЕ, авторы получили указанный выше размер ФСЕ. Действительный размер одной ФСЕ составляет 200-400 молекул хлорофилла, так как для выделения одной молекулы кислорода требуется не менее 8 квантов.

Антенные комплексы

Развитие представлений о структуре ФСЕ привело к выделению двух функциональных типов фотосинтетических пигментов: 1) поглощающие и передающие энергию возбуждения; 2) осуществляющие первичные фотохимические реакции. Первые формируют антенные комплексы, вторые – реакционные центры. Антенные комплексы, непосредственно связанные с реакционными центрами, называют коровыми, или ядерными. По данным рентгеноструктурного анализа, коровый комплекс ФС2 состоит из 36 молекул хлорофилла *a*, коровый комплекс ФС1 – из 96 молекул. Фотосистема № 2 компенсирует небольшое количество молекул хлорофилла *a* в коровой антенне взаимодействием с надсистемным светособирающим комплексом, в состав которого кроме хлорофилла *a* входит один из дополнительных хлорофиллов (*b*, *c*, *d*, *e*). По составу хлорофиллов в надсистемном светособирающем комплексе фотосинтетики делятся на три группы: хлорофилл *a/b* – белковый комплекс присутствует у всех высших растений, зеленых, эвгленовых и харовых водорослей; хлорофилл *a/c* – комплекс содержится в диатомовых водорослях, в большинстве жгутиковых микроводорослей, бурых макроводорослей. Криптофитовые водоросли объединяют антенный хлорофилл *a/c* комплекс и фикобилиновый комплекс. Размеры светособирающего комплекса не постоянны и зависят от условий, в которых формируется и функционирует фотосинтетический аппарат.

Преобразование энергии в реакционных центрах

Реакционные центры классифицируются на основе максимума поглощения особой формы хлорофилла *a*, природы первичного акцептора и донора электронов. Реакционные центры интегрированы в мембрану тилакоидов. Результатом их работы является разделение зарядов, при котором отрицательный заряд локализован на внутренней поверхности, а положительный – на внешней. Максимум поглощения хлорофилла *a* в составе РЦ ФС2 – 680 нм. В состав РЦ ФС2 также входит молекула феофитина *a*, участвующая в качестве акцептора в фотохимическом разделении зарядов. Первичный акцептор электрона (стабильный или метастабильный восстановленный продукт) Q_A – убихинон в окисленном состоянии тушит флюоресценцию хлорофилла *a* в составе светособирающего комплекса ФС2. Реакционным центром ФС1 является длинноволновая форма хлорофилла *a* с максимумом поглощения при 700 нм (P700). Первичный акцептор ФС1 не установлен, он тесно взаимодействует с железосерным переносчиком (FeS), связанным с белком. Структура РЦ ФС2 имеет черты сходства с РЦ пурпурных бактерий, а структура РЦ ФС1 – с РЦ зеленых бактерий.

Представление о совместном функционировании двух фотосистем. Эффекты Эмерсона

Благодаря работам Эмерсона подавляющее большинство исследователей считает, что перенос электронов против термодинамического градиента от воды к НАДФ⁺ ($\Delta E \approx 1,15$ В) происходит за счет энергии двух квантов света с участием двух фотосистем, работающих последовательно. В основе обнаруженных Эмерсоном эффектов лежали опыты по определению спектров действия фотосинтеза. Спектром действия называется кривая зависимости скорости какого-либо фотохимического процесса от длины волны возбуждающего света. Спектральные участки могут быть выравнены по интенсивности, количеству падающих и количеству поглощенных квантов. Важно, чтобы скорость процесса была пропорциональна интенсивности света. При сравнении спектра действия со спектром поглощения можно получить информацию о пигментах, участвующих в данной фотохимической реакции. Поскольку интенсивность фотохимической реакции зависит от количества поглощенных квантов, а не от их энергии, квантовый выход фотохимической реакции, осуществляемой одним пигментом, не зависит от длины волны возбуждающего света.

Нарушение этого правила указывает на участие различных пигментов с разной фотохимической эффективностью. Спектр действия квантового выхода фотосинтеза у зеленой водоросли хлореллы показан на слайде 14.5. Квантовый выход снижается в спектральной области, которую поглощают каротиноиды, а также в области длин волн больше 685 нм, в которой интенсивно поглощается хлорофилл *a*, но не поглощается хлорофилл *b*. Эффект был на-

зван «красным падением» фотосинтеза и был подтвержден в экспериментах с цианобактерией *Chroococcus sp.*, диатомовой водорослью *Navicula minuta* и красной водорослью *Porphyridium cruentum*.

Эффект «красного падения» может быть снят при добавочном освещении более коротковолновым светом, поглощаемым хлорофиллом *b* или каротиноидами. Явление получило название «эффекта усиления», или «второго эффекта Эмерсона». В результате была доказана необходимость участия в фотосинтезе дополнительных (вспомогательных) пигментов, таких, как хлорофиллы *b*, *c*, каротиноиды, а также доказано последовательное участие двух фотохимических систем – коротковолновой фотосистемы № 2 (ФС2) и длинноволновой фотосистемы № 1 (ФС1). Низкий квантовый выход в дальней красной области спектра объясняется тем, что единственным пигментом, поглощающим излучение в этой области, является хлорофилл *a*.

Электрон-транспортная цепь фотосинтеза

Схема ЭТЦ фотосинтеза показана на слайдах 14.6–14.8. Компоненты фотосинтетической цепи переноса электронов локализованы в мембране тилакоидов. Последовательность переносчиков электронов в ЭТЦ фотосинтеза определяют на основе величины их окислительно-восстановительного потенциала. Электрон самостоятельно может переходить от донора к акцептору, если разница между редокс-потенциалом донора (E_D) и редокс-потенциалом акцептора (E_A) отрицательная:

$$(E_D - E_A) < 0.$$

В противном случае перенос электрона происходит в результате фотохимической реакции за счет энергии света. Значения редокс-потенциалов основных компонентов ЭТЦ фотосинтеза показаны.

Комплекс фоторазложения воды вместе с первичным донором электронов ФС2 расположен на внутренней поверхности, акцепторы электрона ФС2 – на внешней. Молекулы пластохинона функционируют между двумя фотосистемами и возвращают электрон на внутреннюю поверхность мембраны. Комплекс цитохромов *b* взаимодействует с пластохиноном и цитохромом *f*, который вместе с пластоцианином (медьсодержащий белок) образует донорный комплекс ФС1. Пластоцианин обладает способностью к латеральным перемещениям вдоль внутренней поверхности тилакоидной мембраны. После первичного акцептора электронов ФС1 электрон на внешней поверхности мембраны попадает на ферредоксин (содержит железо), после чего с участием фермента ферредоксин-НАДФ-редуктазы восстанавливает конечный акцептор фотосинтетического транспорта – НАДФ⁺. Таким образом, электрон, двигаясь от воды к НАДФ⁺, пересекает мембрану тилакоида дважды.

Лекция 15. Электрон-транспортная цепь фотосинтеза и фотофосфорилирование

Основные функциональные комплексы ЭТЦ

Изучение тонкой структуры мембран тилакоидов с помощью методов электронной микроскопии показало, что компоненты ЭТЦ фотосинтеза сгруппированы в комплексы. Структуру комплексов определяют входящие в их состав молекулы белков, а функциональные характеристики комплексов – пигменты, способные к окислительно-восстановительным превращениям, кофакторы, катионы и анионы. Латеральное распределение комплексов в мембранах имеет свои особенности, в зависимости от структурной организации внутренних мембран хлоропластов и их функционального состояния, например в условиях освещения и темноты. Отношение «белок/липид» на контактирующих участках тилакоидов гран выше, чем на участках тилакоидов стромы (1,8 и 1,2 соответственно). Изменение положения комплексов в плоскости мембран тилакоидов происходит при условии, если липиды находятся в жидкокристаллическом состоянии. В механизме латерального перемещения светособирающего хлорофилл-а/в-белкового комплекса участвуют ионы магния, фосфат-анион и фермент киназа.

В цепи транспорта электрона выделяют пять белковых комплексов, дифференцированных структурно и функционально: I – комплекс ФС2, включающий в свой состав белки пигментной антенны, тесно связанные с РЦ, и комплекс фотоокисления воды; II – комплекс ФС1, также включающий в свой состав белки пигментной антенны и функционально связанный с ферредоксином и ферредоксин-НАДФ-редуктазой; III – светособирающий хлорофилл-а/б-белковый комплекс, ответственный за образование гран и регуляцию передачи энергии возбуждения между двумя фотосистемами; IV – цитохром b_6/f комплекс с Fe-S-центром Риска; V – CF_0 - CF_1 -комплекс, представляющий собой АТФазную систему. Комплекс V локализован в тех частях мембраны, которые контактируют со стромой. Комплекс III расположен в зоне «слипания» гран. Комплекс IV участвует в Q-цикле.

Системы фотоокисления воды и выделения кислорода при фотосинтезе

Комплекс фотоокисления воды интегрирован в белок в составе ФС2. Реакции фотоокисления воды протекают на внутренней стороне мембран тилакоида. Реакцию фотоокисления воды можно записать как:



Для осуществления этой реакции необходимо согласовать образование окислительных эквивалентов в реакционном центре, происходящее как одно-

электронный процесс при поглощении каждого кванта света, с четырехэлектронным окислением воды до молекулярного кислорода. Кроме того, необходимо предотвратить взаимодействие промежуточных продуктов фотоокисления воды с другими молекулами и обеспечить равномерное распределение свободной энергии по последовательным стадиям фотоокисления.

В настоящее время установлены следующие черты процесса фотоокисления воды. Четыре электрона отщепляются от двух молекул воды последовательно в результате четырех актов поглощения энергии света в одном реакционном центре (альтернатива кооперативной гипотезе). Молекулярный кислород образуется после удаления четырех электронов из воды, но ионы водорода высвобождаются друг за другом. Эти факты легли в основу циклической модели А. Жолио и Б. Кока (1970, 1975).

Переход из любого S-состояний в следующее происходит в момент, когда фотоокисленный компонент «Z» в составе РЦ ФС2 получает электрон от комплекса фотоокисления воды. После выключения света комплексы в состояниях S_3 и S_2 в ходе обратных реакций переходят в устойчивое состояние S_1 . Существование S-цикла подтверждают эксперименты, в которых после темнового адаптационного периода в ходе импульсного освещения изолированных хлоропластов наблюдают повышение выхода кислорода при третьей вспышке в первом цикле, а затем при каждой четвертой вспышке в последующих циклах. Выделение 4-х протонов в S-цикле не является строго синхронизированным с окислительно-восстановительными превращениями компонента «Z». По одному протону выделяется на этапах $S_0 \rightarrow S_1$ и $S_2 \rightarrow S_3$, по два протона – на этапе $S_4 \rightarrow S_4$.

Состав каталитического центра определен как Mn_4O_4Ca . В качестве кофактора реакции фотоокисления воды выступают ионы хлора. Центр фотоокисления воды блокируют тепловая обработка при температуре выше $40^\circ C$, трис-буфер в концентрации 0,4 М, гидросиламин.

Типы функциональной организации ЭТЦ: нециклический, циклический и псевдоциклический потоки электронов и фотофосфорилирование

Путь электрона от воды к $НАДФ^+$ с участием двух фотосистем получил название нециклического транспорта электронов. В результате образуются молекулярный кислород, восстановленная форма $НАДФН+H$ и мембранный электрохимический градиент ионов водорода (между стромой и пространством внутри тилакоида). Кроме нециклического потока электронов при определенных условиях может происходить циклический транспорт электронов (с участием одной ФС1 или одной ФС2) и псевдоциклический (с участием обеих фотосистем).

Циклический транспорт с участием ФС2 защищает РЦ ФС2 от фоторазрушения при высокой интенсивности света, циклический транспорт с уча-

ствием ФС1 способствует созданию градиента ионов водорода и тем самым участвует в поддержании необходимого энергетического состояния мембраны.

Псевдоциклический транспорт необходим в первый момент освещения после темнового периода для активации ионного транспорта и перехода фотосинтетического аппарата в функциональное состояние.

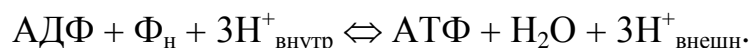
В эксперименте с изолированными хлоропластами можно моделировать работу нециклического транспорта электронов на участке от воды до НАДФ⁺(ФС2+ФС1), нециклического транспорта от воды к искусственному акцептору электронов, функционирующему между двумя фотосистемами (ФС2), циклического с участием ФС1 и псевдоциклического электронного транспорта (ФС2+ФС1).

Стехиометрия сопряжения электронного транспорта и образования АТФ

Фосфорилирование представляет собой процесс синтеза молекулы АТФ из пирогосфата и АДФ за счет свободной энергии, освобождающейся в ходе сопряженной химической реакции (субстратный тип), или за счет электрохимического потенциала ионов водорода. Поскольку накопление электрохимического градиента в тилакоидах происходит за счет энергии света, синтез АТФ в хлоропластах получил название фотосинтетического фосфорилирования, или фотофосфорилирования.

Объяснение механизма фотофосфорилирования основано на хемиосмотической гипотезе П. Митчелла, проверенной и дополненной в работах Аврона, Витта, Ягендорфа.

Реакция синтеза АТФ, катализируемая локализованной в мембране обратимой АТФазой, представлена ниже:



Направление реакции зависит от доступности неорганического фосфора и отношения АТФ/АДФ. Энергетически зависимая стадия синтеза АТФ представляет собой отщепление образованной АТФ от энзимного комплекса. Образование АТФ в хлоропластах можно вызвать в темноте за счет искусственного создания протонного градиента в условиях кислот-основного перехода.

Электрохимический градиент ионов водорода направлен из внутритилакоидного пространства в строму. Концентрационная составляющая электрохимического градиента существенно превалирует над электрической составляющей. Это достигается выходом из тилакоидов ионов калия и магния. В единицах рН величина градиента ионов водорода, необходимая для синтеза АТФ, составляет 3–3,5 ед. При этом рН стромы составляет величину порядка 7,8–8,0, рН внутри тилакоида – 4,0–4,5 ед.

Градиент электрохимического потенциала ионов водорода на мембране тилакоида возникает в результате выхода протонов во внутреннее пространство тилакоида при фотоокислении воды, связывании ионов водорода в пространстве стромы при восстановлении акцептора электронов НАДФ⁺, а также за счет транспорта протонов посредством подвижного переносчика – пластохинона.

Стехиометрию сопряжения нециклического транспорта электронов и синтеза АТФ характеризует отношение $H^+/2\bar{e}$. В случае, когда пластохинон функционирует как одноэлектронный переносчик, отношение $H^+/2\bar{e}$ равно 4-м, в случае, когда осуществляется двухэлектронный перенос (в условиях протекания Q-цикла переноса протонов), $H^+/2\bar{e}$ равно шести. Отношение $H^+/АТФ$, что следует из приведенного уравнения, равно трем. В случае одноэлектронного транспорта с участием пластохинона стехиометрию между АТФ и НАДФН+Н характеризует отношение

$$3(НАДФН+Н):4АТФ.$$

В случае двухэлектронного транспорта с участием пластохинона акцептор и АТФ образуются в отношении

$$1(НАДФН+Н):2АТФ.$$

Из этих стехиометрических отношений следует, что для получения необходимого для функционирования восстановительного цикла Кальвина отношения

$$2(НАДФН+Н):3АТФ$$

в случае одноэлектронного транспорта необходимо обеспечить дополнительное количество АТФ за счет циклического фотофосфорилирования. При транспорте протонов с участием Q-цикла нециклический транспорт обеспечивает необходимое соотношение НАДФН+Н и АТФ.

Регуляция электрон-транспортной цепи фотосинтеза

Регуляция ЭТЦ осуществляется на уровнях распределения энергии возбуждения между фотосистемами (передача энергии возбуждения от светособирающего хлорофилл *a/b*-белкового комплекса к хлорофилл-белковым комплексам ФС2 и ФС1, между ФС2 и ФС1), регуляции отдельных реакций электронного транспорта, взаимодействия с процессом фотофосфорилирования, а также с темновыми процессами фиксации углекислого газа.

Межсистемная регуляция энергии возбуждения проявляется в перераспределении энергии в пользу ФС1 на свету по сравнению с темновыми условиями. Процесс регулирует избыток АТФ, при котором увеличивается протонный градиент. С ростом последнего связан также регуляторный процесс увеличения тепловой диссипации энергии возбуждения в РЦ ФС2.

Вторичный акцептор электронов ФС2 (Q_B) регулирует транспорт электронов между фотосистемами посредством перехода от одноэлектронного к двухэлектронному транспорту и как место действия гербицидов, блокирующих работу ФС2. Пул пластохинона объединяет несколько цепей переноса электрона. Скорость транспорта электронов через пластохинон снижается при увеличении протонного градиента.

Эта реакция отвечает за процесс фотосинтетического контроля скорости транспорта электронов со стороны реакций синтеза АТФ, когда в отсутствии АДФ скорость снижается в 2–2,5 раза. Вещества, увеличивающие проницаемость мембран тилакоида для протонов, действуют как разобщители и увеличивают скорость транспорта электронов. Вещества-ингибиторы CF_0 - CF_1 – комплекса препятствуют расходованию протонного градиента и тормозят электронный транспорт.

Цитохром b_6/f – комплекс участвует в нециклическом и циклическом транспорте электронов, а также в работе Q-цикла, активация которого позволяет увеличить количество протонов, поступающих в тилакоиды при окислительно-восстановительных превращениях пластохинона.

Ферредоксин играет ключевую роль в переключении нециклического, циклического и псевдоциклического транспорта электронов, а также в процессах, альтернативных фотосинтезу. Ферредоксин-НАДФ⁺-оксидоредуктаза также участвует в циклическом потоке электронов от восстановленного НАДФН+Н к переносчикам, расположенным между двумя фотосистемами. Активность ФНР регулируется светом.

В последние годы появились новые данные о способности хлоропластов выполнять дыхательную функцию. Процесс получил название «хлородыхание». В хлоропластах обнаружены следующие дыхательные ферменты: НАД(Ф)Н-пластохинон-оксидоредуктаза, пластохинол-оксидаза, комплекс цитохромов b/c_1 , оксидаза комплекса цитохром b/c_1 , оксидаза пластоцианина. «Хлородыхание», как и митохондриальное дыхание, сопряжено с синтезом АТФ за счет освобождения свободной энергии при окислении пиридиннуклеотидов, а также с поглощением кислорода.

Лекция 16. Темновая стадия фотосинтеза

Природа первичных акцепторов углекислого газа (углекислоты)

Акцептором углерода следует считать органическую молекулу, способную ферментативным путем присоединить молекулу углекислого газа (CO_2) или остаток угольной кислоты (HCO_3^{-1} , CO_3^{-2}). Процесс присоединения молекулы CO_2 к органическому соединению с образованием карбоксильной группы называют карбоксилированием, а ферменты, осуществляющие этот процесс, – карбоксилазами. Карбоксилирование свойственно как гетеротрофным, так и автотрофным организмам. Различают α - и β -карбоксилирование.

В первом случае CO_2 присоединяется к атому углерода карбоксильной группы, во втором – к атому углерода, находящемуся в β -положении по отношению к карбоксильной группе. Именно β -карбоксилирование играет большую роль в метаболизме гетеротрофных и автотрофных организмов. Карбоксилирование требует свободной энергии. Восстановленные формы НАДН+Н или НАДФН+Н служат источниками свободной энергии для обратимой реакции карбоксилирования пировиноградной кислоты с образованием яблочной кислоты.

Примером реакций карбоксилирования, в которых источником энергии служит молекула АТФ, является карбоксилирование пировиноградной кислоты с образованием щавелевоуксусной кислоты. В третьей группе реакций энергию для карбоксилирования поставляет акцептор углерода, например фосфоенолпировиноградная кислота (ФЕП).

В ходе изучения фотосинтеза установили, что акцепторами углерода выступают фосфорсодержащие углеводы и органические кислоты.

Фиксация углекислого газа в цикле Кальвина-Бенсона, ключевые ферменты

При исследовании фотосинтетического карбоксилирования одновременно решаются вопросы природы первичного акцептора углерода, природы устойчивого первичного продукта и природы фермента. Пути фиксации и превращения углерода в процессе фотосинтеза стали понятны благодаря развитию методов хроматографии в сочетании с применением радиоизотопа углерода C^{14} . Опытами М. Кальвина, Дж. Бассема, Э. Бенсона было доказано, что первым устойчивым продуктом фотосинтеза является 3-фосфоглицериновая кислота.

Меченый углерод входит в состав карбоксильной группы. Акцептором углекислого газа оказалось пятиуглеродное соединение рибулезо-1,5-бифосфат, а не двухуглеродное, как предполагали вначале. Объектами исследований, которые позволили добиться первых успехов в изучении реакций фотосинтетической фиксации углекислого газа, были зеленые микроводоросли родов *Chlorella* и *Scenedesmus*. Успех обеспечили условия проведения экспериментов: включение-выключение света, быстрое снижение концентрации CO_2 от 1 % до 0,003 %.

Группа ученых во главе с М. Кальвином установила, что фотосинтетическая ассимиляция углерода является темновым циклическим ферментативным процессом, в ходе которого расходуется энергия синтезированных во время световой стадии соединений (АТФ и НАДФН+Н), образуются конечные продукты и регенерируется молекула первичного акцептора углерода. Позднее выяснилось, что по такому принципу устроены и другие пути фотосинтетического усвоения CO_2 или остатка угольной кислоты.

Различают три этапа восстановительного пентозофосфатного цикла (ВПФ-цикл) фиксации углерода: 1 – карбоксилирование; 2 – образование конечных продуктов; 3 – регенерация акцептора углекислого газа.

Реакция карбоксилирования молекулы рибулозо-1,5-бисфосфата с образованием двух молекул 3-фосфоглицериновой кислоты (3-ФГК), по-видимому, требует превращения молекулы рибулозо-1,5-бисфосфата в активную енольную форму, присоединения CO_2 ко второму атому углерода с образованием нестойкой β -кетокислоты и ее последующего гидролиза. Реакцию катализирует фермент рибулобисфосфаткарбоксилаза (Рубиско).

Путь превращения 3-ФГК считают центральным звеном в фотосинтетическом цикле углерода. Сначала из 3-ФГК с участием фермента фосфоглицераткиназы и АТФ образуется 1,3-дифосфоглицериновая кислота (1,3-ДФГК) с макроэргической связью. Далее фермент триозофосфатдегидрогеназа с участием НАДФН+Н восстанавливает 1,3-ДФГК до 3-фосфоглицеринового альдегида (3-ФГА). Таким образом, в реакциях превращения 3-ФГК в 3-ФГА расходуются богатые энергией продукты световой фазы фотосинтеза: 2 молекулы НАДФН+Н и 2 молекулы АТФ.

Дальнейшие реакции ВПФ-цикла направлены на превращение трехуглеродных соединений (3-ФГА и его изомера диоксиацетонфосфата (ДОАФ)) в пятиуглеродный акцептор CO_2 – рибулозо-1,5-бисфосфат, а также на получение продуктов фотосинтеза (сахароза, крахмал). В реакциях регенерации акцептора CO_2 , которые представляют собой внутримолекулярные перегруппировки фосфорсодержащих сахаров, участвуют трехуглеродные соединения (3-ФГА и ДОАФ), четырехуглеродное соединение (эритрозо-4-фосфат), пятиуглеродные соединения (рибозо-5-фосфат, рибулозо-5-фосфат, ксилулозо-5-фосфат), шестиуглеродные соединения (фруктозо-1,6-фосфат, фруктозо-6-фосфат) и семиуглеродные соединения (седогептулозо-1,7-фосфат, седогептулозо-7-фосфат). Превращения углеводов осуществляют следующие ферменты: фосфокиназы, переносящие остаток фосфорной кислоты от АТФ к рибулозо-5-фосфату и 3-ФГК, изомеразы, фосфатазы, транскетолазы, переносящие двухуглеродные фрагменты, альдолаза и эпимераза.

В реакции превращения рибулозо-5-фосфата в рибулозо-1,5-бисфосфат расходуется еще одна молекула АТФ, образованная в результате фотофосфорилирования.

Из реакций ВПФ-цикла для дальнейшего превращения в продукты фотосинтеза необходимо вывести молекулу фосфорсодержащего сахара. Такой молекулой с минимальным числом атомов углерода является 3-ФГА (или 3-ФГК). Поэтому для баланса цикла в него необходимо ввести три молекулы CO_2 . Тогда при полном обороте цикла из пяти молекул 3-ФГК можно получить в конечном итоге три молекулы рибулозо-1,5-бисфосфата. При этом на осуществление реакций требуется 6 молекул НАДФН+Н (если из цикла уxo-

дит 3-ФГА) и 9 молекул АТФ. Соотношение НАДФН+Н/АТФ, равное 2/3, должно обеспечивать световые реакции фотосинтеза.

Первичные продукты фотосинтеза

Первичными можно считать продукты фотосинтеза, образующиеся из промежуточных соединений ВПФ-цикла раньше конечных углеводов. К таким продуктам у хлореллы относятся аминокислоты аланин, серин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота. Предполагают, что в синтезе аминокислот участвует 3-ФГК, которая превращается в фосфоенолпируват или пировиноградную кислоту.

Андреева показала, что аминокислоты, появившиеся в хлоропластах во время фотосинтеза, включаются в белок раньше и с большей эффективностью, чем аминокислоты, образованные в темновых реакциях превращения сахаров. ФЕП путем темнового β -карбоксилирования превращается в органические кислоты. На свету активируется синтез липидов, в который вовлекаются ДОАФ и двухуглеродные фрагменты, присутствующие в реакциях с участием транскетолаз.

Факторами, регулирующими пути усвоения CO_2 при фотосинтезе, являются физиологическое состояние растения, освещенность, водоснабжение, минеральное питание, содержание CO_2 . Важным моментом в регуляции направленности фотосинтеза является отношение восстановленного НАДФ к АТФ. При недостатке АТФ превращение 3-ФГК в 3-ФГА может быть затруднено и 3-ФГК будет направлена на образование ФЕП.

Фотодыхание

Фотодыхание – процесс поглощения кислорода и выделения CO_2 хлоропластами на свету. Точно измерить интенсивность фотодыхания трудно, так как при этом одновременно идут фотосинтез, фотодыхание и митохондриальное дыхание. Разветвление процессов фотосинтеза и фотодыхания происходит на уровне ключевого фермента ВПФ-цикл-Рубиско. Фермент проявляет свойства оксигеназы. Конечным продуктом фотодыхания, как и ВПФ-цикла, является молекула ФГК. Поэтому фотодыхание можно рассматривать как биохимический шунт, обеспечивающий работу цикла в условиях, когда фермент Рубиско функционирует при недостатке CO_2 или избытке кислорода.

В основе фотодыхания лежит гликолатный путь C_3 -растений. Следует подчеркнуть следующие особенности этого пути: CO_2 образуется в реакции превращения двух молекул глицина в серин; кислород расходуется как при образовании гликолата с участием фермента Рубиско, так и при окислении гликолата с участием гликолатоксидазы. Кроме того, возможно усиление митохондриального дыхания при окислении НАДН+Р, образующейся при де-

карбоксилировании глицина; образуется свободный аммиак; ФГК может расходоваться на синтез сахарозы и крахмала (гликогенолиз); в гликолатном цикле расходуется энергия АТФ и НАФН+Н; цикл основан на челночном переносе метаболитов между компартментами клетки – цитоплазмой, хлоропластами, митохондриями и пероксисомами. Фотодыхание свойственно C_3 -растениям и эукариотическим водорослям.

Фиксация углекислого газа в цикле Хэтча-Слэка-Карпилова

Основой для биохимических исследований фотосинтеза у C_4 -растений стали работы Коршака и его сотрудников (Гонолулу), в СССР – Ю.С. Карпилова и его сотрудников, в Австралии – Хэтча, Слэка и Джонсона. Этим работам способствовало развитие методов выделения изолированных хлоропластов, протопластов и клеток, а также методов электронной микроскопии и иммунного анализа.

Были установлены главные черты, отличающие C_4 -растения от C_3 -растений: источником CO_2 для ВПФ-цикла служат C_4 -органические кислоты, а не CO_2 атмосферы; имеются 2 типа клеток, позволяющие пространственно разделить процессы фиксации CO_2 из атмосферы (клетки мезофилла), вторичное включение CO_2 в ВПФ-цикл с образованием сахарозы (клетки обкладки проводящих пучков).

Первыми в список C_4 -растений вошли однодольные растения (кукуруза, сорго, просо и сахарный тростник). В дальнейшем список C_4 -растений быстро увеличился и в настоящее время составляет около 1000 видов однодольных и двудольных растений. Оказалось, что принцип пространственного разделения этапа первичной фиксации CO_2 и этапа включения CO_2 в ВПФ-цикл может быть реализован даже в пределах одной клетки, которая разделена на две части вакуолью (водные растения).

Акцептором углекислого газа атмосферы выступает C_3 -соединение фосфоенолпируват (ФЕП), которое превращается в C_4 -соединение шавелевоуксусной кислоты (оксалоацетат), или ЩУК, с участием цитоплазматического фермента ФЕП – карбоксилазы; при образовании C_4 -соединений в той или иной степени расходуются продукты световой фазы фотосинтеза (АТФ и НАДФН+Н); C_4 -соединения выполняют роль челноков, переносящих углерод и свободную энергию в клетки обкладки проводящих пучков, где локализованы ферменты ВПФ-цикла; после декарбоксилирования образующиеся C_3 -соединения возвращаются в клетки, где локализованы соответствующие им карбоксилазы. Карбоксилазы C_3 -соединений, в отличие от фермента Рубиско, не имеют оксигеназной активности и способны работать при крайне низких отношениях CO_2/O_2 в атмосфере. Таким образом, C_4 -путь позволяет увеличить эффективность как первичной фиксации углекислого газа, так и вторич-

ной, связанной с ферментом Рубиско (за счет увеличения концентрации CO_2 и снижения концентрации O_2).

Разнообразие метаболических путей у C_4 -растений связано с особенностями образования C_4 -соединений и реакций их декарбоксилирования.

Разнообразие метаболических путей позволяет выделить группы НАДФ-маликэнзимных, НАД-маликэнзимных и ФЕП-карбоксикиназных C_4 -растений. Для всех типов C_4 -метаболизма реакция карбоксилирования ФЕП протекает в цитоплазме клеток мезофилла, продуктом реакции является ЩУК. В дальнейшем ЩУК превращается в яблочную кислоту (малат) – у НАДФ-маликэнзимных растений (кукуруза, сорго), в аспартат – у НАД-маликэнзимных (просо) и ФЕП-карбоксикиназных (амарант) растений.

В форме малата или аспартата углерод поступает в клетки обкладки проводящих пучков, где и происходит декарбоксилирование в соответствии с их энзиматическим типом.

САМ-метаболизм стали изучать задолго до C_3 - и C_4 -фотосинтеза. Информация о накоплении органических кислот в темноте в клетках растений семейства толстянковых появилась сразу после того, как исследователи стали изучать их газообмен. САМ-метаболизм состоит в том, что в ночное время в цитоплазме происходит восстановительное карбоксилирование ФЕП с образованием малата, как у C_4 -растений. Малат накапливается и хранится в вакуоли.

Для образования ФЕП расходуется крахмал. Днем малат из вакуоли переходит в цитоплазму, где декарбоксилируется одним из трех возможных механизмов: НАДФ-маликэнзима, НАД-маликэнзима и ФЕП-карбоксикиназы.

С экологической точки зрения, САМ-метаболизм дает преимущества в условиях водного дефицита. В настоящее время установлено, что к САМ-метаболизму могут переходить C_3 -растения при водном дефиците, засолении, т. е. это достаточно распространенное явление.

Особенности углекислотного метаболизма у C_3 -, C_4 -, и САМ-растений

Потребность в энергетических эквивалентах для фиксации молекулы CO_2 у растений различных групп составляет 3 АТФ/2 НАДФН+Н у C_3 -растений, 5 АТФ/2 НАДФН+Н у C_4 -растений, 10 АТФ/4 НАДФН+Н у САМ-растений. У C_4 -растений по сравнению с C_3 -растениями расходы воды на синтез органического вещества сокращены почти в два раза. Это позволяет растениям с C_4 -типом углеродного метаболизма успешно конкурировать с C_3 -растениями в условиях теплого сухого климата. Однако при продвижении на север преимущество получают C_3 -растения.

Эволюция механизма концентрирования CO_2

Фермент Рубиско катализирует первую реакцию восстановительного цикла фиксации углерода. Сродство фермента Рубиско к CO_2 относительно низкое. Тем не менее многие фотосинтетики показывают высокие скорости фиксации CO_2 благодаря внутриклеточному механизму концентрирования углерода. Этот механизм обнаружен как у бактерий, так и у высших растений. Эффективность процесса можно оценить, сравнивая внутриклеточную величину $K_m(\text{CO}_2)$ для фермента Рубиско с внеклеточной величиной $K_{1/2}$ для растворенного CO_2 .

Отношение $K_m(\text{CO}_2)/K_{1/2}$ достигает нескольких сотен у алкалофильной цианобактерии, способной эффективно «накачивать» CO_2 и HCO_3^- внутрь клетки; это отношение близко единице у организмов, лишенных концентрирующего механизма. Обратная корреляция между эффективностью концентрирующего механизма и сродством фермента Рубиско к CO_2 позволила предположить, что эта обратная связь возникла в ходе коэволюции при глобальном изменении концентрации CO_2 . Спустя несколько лет после открытия того, что CO_2 концентрируется цианобактериями, было доказано, что повышение концентрации CO_2 происходит в специализированных структурах (карбоксисомах) при участии фермента карбоангидразы, превращающего накопленные бикарбонатные ионы HCO_3^- в CO_2 . Карбоангидраза действует вблизи фермента Рубиско, также локализованного в карбоксисоме. Эта модель реализуется и в эукариотических микроводорослях, у которых в хлоропластах есть специальная структура (пиреноид) с функциями карбоксисомы.

Выделение CO_2 в непосредственной близости от фермента Рубиско, во-первых, активирует этот фермент, во-вторых, компенсирует относительно низкое сродство фермента к CO_2 , снижая уровень фотодыхания, в-третьих, обеспечивает сток световой энергии и регулирует внутренний уровень pH. Степень, с которой цианобактерии и микроводоросли используют механизм, концентрирующий углерод, может определять структуру и популяционную динамику фитопланктона. Существование у многих водных микроорганизмов CO_2 – концентрирующего механизма имеет геохимические следствия при прогнозировании участия фотосинтетиков в регуляции глобальной концентрации CO_2 .

Концентрирующий механизм у C4- и САМ-растений принципиально отличается от того, который действует в микроорганизмах. Он основан на двух последовательных реакциях карбоксилирования, разделенных в пространстве или во времени, а не на активном транспорте углерода в клетку.

Лекция 17. Экология фотосинтеза

Влияние на фотосинтез температуры, условий освещения, содержания углекислоты, условий минерального питания, водоснабжения

Эколого-физиологический аспект процесса фотосинтеза важен для понимания закономерностей формирования продуктивности растений и роли фотосинтеза в адаптации растений к условиям окружающей среды. Развитие экологического направления в изучении фотосинтеза связано с такими именами, как О. В. Заленский, О. А. Семихатова, П. А. Генкель, И. А. Тарчевский, А. Т. Мокроносов, В. Л. Вознесенский.

Влияние температуры и условий освещения на фотосинтез связано с суточными и сезонными циклами. Наиболее характерна одновершинная форма суточной кривой фотосинтетического газообмена с выраженным полуденным максимумом в ясный день, положим куполообразным максимумом в пасмурный день. В дни с переменной облачностью или под пологом леса кривая имеет пилообразный характер.

В условиях недостатка углекислого газа, при водном дефиците и перегреве листовой пластинки может проявляться полуденная депрессия фотосинтеза, приводящая к двум суточным максимумам кривой фотосинтетического газообмена. Растения можно разделить на светолюбивые и тенелюбивые. Первые растут на открытых местах при полном солнечном освещении, вторые – только при затенении. Промежуточное положение занимают теневыносливые растения, что делает характеристику групп весьма условной.

Форма типичных световых кривых скорости согласуется с представлениями о том, что фотосинтез состоит из световых (фотохимических) и темновых (химических) реакций. У светолюбивых растений интенсивность фотосинтеза увеличивается линейно при возрастании облученности от нулевого значения до 20–30 % от полного солнечного света (400–500 Вт/м² в полдень в области ФАР). Начиная со значений облученности 50–60 % от полного солнечного света, интенсивность фотосинтеза остается неизменной. При этом фотосинтез лимитируют темновые химические реакции, диффузия CO₂ в хлоропласты, отток из них образовавшихся продуктов фотосинтеза. Более высокий уровень инсоляции может привести к снижению скорости фотосинтеза (фотоингибирование). Наклон линейного участка световой кривой в первую очередь определяется содержанием пигментов. У светолюбивых видов он обычно меньше, чем у теневыносливых растений.

У светолюбивых насыщение фотосинтеза достигается при большей освещенности, чем у теневыносливых растений. Так, у теневыносливых растений световое насыщение фотосинтеза наблюдается при 1 кЛк, у светолюбивых древесных растений – при 10–40 кЛк, у растений высокогорья – при 60 кЛк и выше.

К числу теневыносливых относятся травянистые растения, развивающиеся под пологом леса, некоторые древесные растения, а также глубоко-

водные морские водоросли. Светолюбивыми является большинство сельскохозяйственных и древесных растений, а также водоросли, живущие на не-большой глубине. Для светового насыщения бактериального фотосинтеза достаточно интенсивности светового потока в несколько кЛк.

В области светового насыщения интенсивность фотосинтеза значительно выше интенсивности дыхания. При снижении освещенности до определенной величины интенсивности фотосинтеза и дыхания становятся равными. Эта точка на оси абсцисс световой кривой получила название светового компенсационного пункта. Его определяют при концентрации углекислого газа в 0,03 % и температуре, равной 20 °С. У одноклеточных водорослей он соответствует нескольким десяткам люксов, теневыносливых высших растений – 250–300 Лк, у светолюбивых – 800–2000 Лк. Положение светового компенсационного пункта смещается в сторону низких значений освещенности при повышении концентрации CO₂ в воздухе и в сторону высоких значений при повышении температуры.

Переход от темноты к свету так же, как и резкие колебания освещенности, вызывает индукционные эффекты, во время которых скорость фотосинтеза претерпевает быстрые (в течение секунд) и медленные (в течение минут, часов) изменения. Индукционные эффекты заканчиваются стационарным уровнем фотосинтеза, который используют при экспериментальном определении влияния на фотосинтез внутренних и внешних факторов.

Сезонный ход фотосинтеза зависит от многих условий. Вечнозеленые растения южных широт фотосинтезируют круглый год, и уровень газообмена отвечает изменениям освещенности и температуры. В умеренных широтах у вечнозеленых и зимнезеленых форм в зимний период ассимиляция либо совсем прекращается, либо снижается до минимума. У растений, защищенных от зимних холодов снежным покровом, фотосинтез с наступлением благоприятных условий быстро активизируется и достигает максимальных величин с наступлением генеративных фаз развития.

Вечнозеленые органы (хвоя) и ткани древесных и кустарниковых растений (кора) теряют фотосинтетическую активность в осенний и зимний период в результате физиологических изменений, направленных на приобретение криорезистентности. В весенний период, с наступлением теплой погоды, исчезает устойчивость фотосинтезирующих тканей к морозу, а их фотосинтетическая активность возобновляется в течение нескольких дней.

Действие света на структуру хлоропласта в первую очередь связано с действием света на биосинтез хлорофилла. В условиях этиоляции в хлоропластах развивается особая структура мембран, так называемое проламеллярное тело. При переносе на свет первые тилакоиды появляются после накопления достаточного количества хлорофилла (до 30 % от нормы). Особыми условиями зеленения следует считать импульсный свет (2 минуты свет – 98 минут темноты), при котором возникает дефицит хлорофилла *в* и слабо развита гранальная структура. Подобную структуру хлоропластов демонстрируют и мутанты зеленой водоросли хламидомонады и ячменя, лишенные хлорофилла *в*.

Внутреннее строение зрелых хлоропластов зависит от интенсивности и спектрального состава света. У теневыносливых растений количество гран и число тилакоидов больше, чем у светолюбивых растений. Однако при выращивании кукурузы в условиях низкой облученности количество гранов в клетках мезофилла уменьшалось.

Фотосинтез большинства растений ограничен температурным интервалом 0–50 °С, и максимум фотосинтеза для них лежит в области 20–30° С. Часто широкое распространение определенного вида растения связано с его способностью фотосинтезировать в широком диапазоне температур. Температурный оптимум может изменяться в течение сезона. Спад фотосинтеза с повышением температуры выше 35–40° С связан с инактивацией реакционного центра ФС2. Полностью РЦ ФС2 перестают функционировать как энергетические ловушки при температуре 50° С. При 55° С нарушается передача энергии возбуждения от хлорофилла *b* к хлорофиллу *a*. При температуре выше 60–65° С перестает функционировать ФС1. Ограничение скорости фотосинтеза в области низких температур связано с темновыми реакциями, фосфорилированием. Фотохимические реакции в реакционных центрах и миграция энергии света происходят и при низких отрицательных температурах. Действие теплового и холодового стрессов может быть ослаблено или снято предварительной закалкой. Характер ответной реакции может зависеть от света и других сопутствующих факторов.

Первыми в ряду исследований взаимодействующих факторов были исследования влияния света и температуры на ассимиляцию углекислого газа. Эксперименты проводила Матеи в лаборатории Блэкмана. В результате Блэкман предположил существование экспоненциальной зависимости скорости ассимиляции от температуры.

Важным примером взаимосвязи температуры и света служит влияние температуры на световой компенсационный пункт. С понижением температуры интенсивность света, компенсирующая дыхание, также снижается. Важным экологическим следствием этого является увеличение глубины фотического слоя в стратифицированных водных экосистемах. Следует добавить, что световой компенсационный пункт сдвигается в область низких значений при повышении концентрации CO₂, которое слабо влияет на скорость дыхания, но увеличивает скорость ассимиляции.

Структурная организация хлоропласта. Количество гран, строение тилакоидов отличается большой лабильностью. Проявляется специфика изменений структуры ламелл при недостатке элементов минерального питания. При недостатке азота в листьях фасоли уменьшалось число гран, количество тилакоидов в них, деградировали тилакоиды стромы. Недостаток фосфора вызывал уменьшение числа гран и развитие агранальной структуры. С другими многочисленными примерами вы сможете познакомиться при самостоятельном изучении курса.

Эффективность световых и темновых реакций связана с различными минеральными элементами, присутствие которых зависит от состава почвен-

ного раствора, эффективности поглощения и транспорта. В большинстве работ рассмотрено влияние дефицита минеральных веществ на состояние фотосинтетического аппарата. Изучение особенностей этих эффектов в рамках данного курса предусмотрено в качестве самостоятельной работы.

Водный потенциал листа определяют как меру активности воды в тканях по сравнению с активностью чистой воды ($a_w=1$). Для регуляции водного потенциала в межклетниках листа растения суши используют активное движение устьиц. У влаголюбивых растений устьица начинают закрываться при снижении водного потенциала до минус 4 атм, а у устойчивых к засухе полевых растений при минус 16–17 атм. Максимальная активность фотосинтеза наблюдается при небольшом водном дефиците (8–15 %).

На принципиальные промежуточные процессы фотосинтеза, такие, как работа реакционных центров фотосистем, транспорт электронов, фотофосфорилирование, восстановление ФГК, водный дефицит при значительном обезвоживании действует угнетающе (общая потеря воды тканями листа при этом может достигать 50–60 %). Потеря воды в большинстве случаев действует неспецифично, посредством подавления активности плазматических и цитоплазматических ферментов. Для характеристики различий взаимосвязи между водным балансом и продуктивностью у разных растений используют коэффициент транспирации (H_2O , л/1 кг сухого вещества). Колебания этого показателя составляют от 87 у геофитов до 600 у культурных растений. Длительные периоды потери воды сопровождаются перестройкой фотосинтетического аппарата, начиная с количества и размера листьев и заканчивая тонкой структурой хлоропластов.

Показатели эффективности работы фотосинтетического аппарата (квантовый выход, ассимиляционное число)

Важным показателем, характеризующим эффективность работы фотосинтетического аппарата растений, является квантовый расход фотосинтеза – число квантов света, необходимых для усвоения одной молекулы CO_2 или выделения одной молекулы O_2 . Обычно расчеты производятся на один моль поглощенного углекислого газа или выделенного кислорода. Часто используется обратная величина – квантовый выход фотосинтеза, рассчитываемый по количеству молекул усвоенного углекислого газа или выделенного O_2 , отнесенному к числу поглощенных квантов. Чем больше величина квантового расхода и меньше квантового выхода, тем ниже эффективность использования световой энергии на осуществление фотосинтеза.

Для получения максимального квантового выхода необходимы оптимальные условия работы фотосинтетического аппарата (температура, концентрация CO_2 и т. д.). Кроме того, опыты следует проводить при низкой освещенности, соответствующей начальной части линейного участка световой кривой, где скорость темновых реакций еще далеко не становится фактором, лимитирующим фотосинтез. Самый низкий квантовый расход фотосинтеза водорослей и у высших растений соответствует, по-видимому, 8–10 квантам

света на одну молекулу восстанавливаемой CO_2 . Другим показателем эффективности работы фотосинтетического аппарата является ассимиляционное число (АЧ) или суточное ассимиляционное число (САЧ), т. е. соотношение количества усвоенного углерода (углекислого газа) и количества хлорофилла. Этот показатель применяют при оценке потенциального фотосинтеза планктонных водорослей и цианобактерий.

Фотосинтез в онтогенезе растения

У древесных и кустарниковых растений онтогенез листа почти не зависит от возраста самого растения. Весной листья распускаются практически одновременно и в течение сезона их развитие синхронизировано. У травянистых растений, наоборот, листья появляются последовательно друг за другом, и чем больше возраст растения, тем больше различий у старых и молодых листьев. В пределах листовой пластинки у двудольных растений в мозаичном порядке расположены относительно молодые и относительно старые клетки. У листьев однодольных растений возраст клеток увеличивается от основания к вершине.

Интенсивность фотосинтеза в начале развития листа возрастает вместе с ростом концентрации хлорофилла. После полного развития листа его фотосинтетический потенциал поддерживается на высоком уровне от нескольких недель у травянистых растений до нескольких месяцев – у древесных. В ходе старения листа интенсивность его фотосинтетического газообмена быстро снижается. При этом отмечаются эффекты разобщения потока электронов и синтеза АТФ, преимущественная потеря активности у ФС2 по сравнению с ФС1. Период активного фотосинтеза у листьев зависит от общего гормонального статуса растений. Обрезка деревьев и кустарников продлевает период активного роста листьев и усиливает работу фотосинтетического аппарата.

Хорошо исследовано изменение фотосинтеза в онтогенезе хвойных растений. Наиболее интенсивный фотосинтез наблюдают в период интенсивного роста побегов. С увеличением возраста побега показатели CO_2 газообмена снижаются. Суточные балансы CO_2 становились положительными, когда в период роста хвоя достигала длины 12–13 мм.

МОДУЛЬ 3

Раздел 7. Рост и развитие растений

Лекция 18. Основные понятия процессов роста и развития растений

Общие представления о росте и развитии растений

Рост и развитие – наиболее сложные процессы в жизнедеятельности организма. Они непосредственно связаны с питанием, водным режимом, транспортом веществ, двигательной активностью, механизмами коррелятивных взаимодействий всех частей целого растения.

Историю изучения роста и развития растений можно разделить на четыре периода:

1. Описание процессов роста и развития («Учение о растениях» Аристотеля, «О причинах растений» Теофраста, теория эпигенеза К. Ф. Вольфа, «Опыт объяснения метаморфоза растений» И. В. Гете, клеточная теория М. Я. Шлейдена и Т. Шванна, работа К. Негели по изучению развития верхушечных меристем и образования из них органов и тканей, открытие чередования поколений у споровых, доказательство полового размножения у растений, описание строения семязачатка и зародышевого мешка, процесса оплодотворения, образования зародыша, развития эндосперма в работах В. Гофмейстера, С. Г. Навашина и др.);

2. Изучение влияния внешних факторов, названное К. А. Тимирязевым «экспериментальной морфологией» (работы Т. А. Найта, А. С. Фаминцына, Ю. Сакса, Г. Фехтинга, Г. Клебса, Г. Гасснера, У. У. Гарнера и Г. А. Алларда);

3. Поиски внутренних факторов роста и развития (Сакс доказал, что в растительных тканях функционируют органообразующие вещества, Ч. и Ф. Дарвины доказали, что апекс стебля вырабатывает химический стимул, который перемещается в нижележащие зоны и вызывает ускорение их роста, Ф. Вент и Ф. Кегль определили его химическую природу, Д. Н. Нелюбов показал, что этилен обладает сильным морфогенетическим действием. Были открыты другие фитогормоны, М. Х. Чайлахян разработал гормональную теорию развития растений, предположив, что их зацветание индуцируется специальным гормоном – флоригеном. В середине XX века началось изучение роли генов в процессе роста и развития);

4. Выяснение механизмов роста и морфогенеза. (Интенсивно изучаются механизмы деления, растяжения и дифференцировки клеток, роль экспрессии генов в этих процессах; выдвинута гормональная теория тропизмов Вента – Холодного; Х. Бортвик и С. Хендрикс открыли фитохром, принимающий участие в процессах фотопериодизма и фотоморфогенеза; активно изучаются молекулярные механизмы действия фитогормонов; доказано, что поляризация клеток может быть связана с функциональной активностью мембран;

выдвинута концепция определяющей роли колебательных процессов в явлениях самоорганизации живых организмов и т.д.).

Рост и развитие растений – неотъемлемые свойства живого организма. Эти процессы тесно взаимосвязаны, так как обычно организм и растет, и развивается. Однако темпы роста и развития могут быть разными: быстрый рост может сопровождаться медленным развитием, и наоборот.

Критерии темпов роста – скорость нарастания массы, объема, размеров растения. Критерием темпов развития служит переход растений к воспроизведению и репродукции. Сказанное подчеркивает нетождественность этих понятий, но и позволяет рассматривать процессы роста и развития последовательно. Они находятся под контролем генома и регулируются рядом внутренних и внешних факторов. Для растения определяющее значение имеет согласованность взаимодействия внешних и внутренних факторов, участвующих в регулировании этих процессов.

Рост и развитие растений – сложный процесс, в основе которого лежат такие фундаментальные явления, как ритмичность, полярность, дифференциация, раздражимость, корреляция. Об этих явлениях поговорим в следующих лекциях.

Рост представляет собой одно из наиболее легкообнаруживаемых проявлений жизнедеятельности растений, так как при этом увеличиваются размеры растительных органов и тканей. Однако он не всегда сопровождается увеличением размеров и массы растения. Не всякое увеличение размеров свидетельствует о росте. Д. А. Сабинин писал, что рост нельзя сводить только к увеличению растительной массы, поскольку при этом происходит «новообразование элементов структуры организма».

Следовательно, под термином «рост» понимают необратимое увеличение размеров и массы клетки, органа или всего организма, связанное с новообразованием элементов их структур. Данное понятие отражает количественные изменения, сопровождающие развитие организма или его частей. Этот процесс происходит на разных уровнях организации организма (субклеточном, клеточном, органном и организменном), т. е. можно говорить о новообразовании органелл клеток, органов, росте организма и даже популяции. Определение, данное выше, подчеркивает то, что рост, как процесс, не прерывается в течение жизни растения, а меняются лишь его формы.

Однако одновременно с новообразованием элементов структуры в растении совершается противоположный процесс – деструкция. Например, в ходе образования сосудов в соответствующих клетках постепенно разрушаются протопласты. В ходе образования бокового корня идет разрушение сформированных клеток первичной коры главного корня. Как отмечают В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева, необходимо различать истинный и видимый рост. Истинный рост – это новообразование структур. Видимый рост – это баланс новообразования и деструкции. Для роста нужны строительные материалы и вещества, регулирующие этот процесс. В качестве них используются питательные вещества, поступающие в клетку извне, а также находящиеся в ней

запасные вещества. Для роста необходимо наличие специальных веществ – регуляторов: гормонов, витаминов и др.

Растение, в отличие от животного, постоянно сохраняет способные к росту эмбриональные ткани, и его рост продолжается в течение всей жизни организма. Высшее растение живет и питается одновременно в двух средах: побеги – в воздушной среде; корни – в почве. Так как верхушка побега и кончик корня, как правило, первыми встречаются с новой ситуацией, то на этих участках локализованы многие рецепторные системы, позволяющие воспринимать изменения во внешней среде и адекватно на них реагировать.

Закономерности, типы роста

Основой роста является образование новых клеток и их рост, сопровождаемые их дифференциацией. Еще со времени Ю. Сакса рост клеток принято делить на три фазы: эмбриональную; растяжения; дифференцировки. Такое разделение носит условный характер. За последнее время внесены изменения в само понимание основных особенностей, характеризующих эти фазы роста. Если прежде считалось, что процесс деления клетки происходит лишь на эмбриональной фазе роста, то сейчас доказано, что клетки могут иногда делиться и на фазе растяжения.

Характерной чертой ростовых процессов растительных организмов является их локализация в определенных тканях – меристемах. Они расположены по-разному в отдельных органах.

У стеблей и корней конус нарастания занимает так называемое терминальное положение, при котором он и молодые клетки составляют морфологически верхнюю часть органа. В связи с этим и стебли, и корни растут своими верхушками.

Такой рост называют апикальным. Однако в то время как у надземных органов конус нарастания занимает довольно обширную зону, у корней активный рост сосредоточен в более ограниченной зоне. Так, если длина зоны роста у надземных органов (стебли) от 2–4 до 30 см и более, то длина зоны роста у корней, растущих в земле, как правило, не превышает 10 мм, а длина этой зоны у воздушных корней достигает 100 мм и больше. Характер роста одного и того же органа может варьироваться в зависимости от видовой специфики растения. У злаков рост стебля осуществляется у оснований междоузлий. Такой тип расположения зоны активного роста между сформировавшимися, закончившими свое развитие тканями носит название интеркалярного (вставочного) роста. Расположенная у основания междоузлий и охваченная листовыми влагалищами вставочная меристема у злаков остается активной на протяжении длительного времени. Этим обусловлена способность полеглих злаков подниматься даже в тех случаях, когда полегание произошло на поздних этапах развития растений.

В случае базального роста зона нарастания находится у основания органа, а закончившие рост ткани – выше зоны роста. Такое расположение

встречается у листьев злаков, трав и других однодольных растений, а также у цветочных стрелок. Все эти органы растут у своих оснований.

Иной тип роста характерен для листьев многих двудольных. Например, у табака рост осуществляется по всей периферии листа с близкой для всех его частей скоростью.

Латеральные меристемы обеспечивают рост стебля в толщину. Клетки камбия делятся в тангентальном направлении, вследствие чего они расположены всегда правильными радиальными слоями. В результате деления камбия образуются элементы ксилемы и флоэмы, причем количество ксилемных элементов значительно выше количества элементов флоэмы. Паренхимные клетки сердцевидных лучей, разделяющие камбиальные пучки, под влиянием продолжающейся деятельности пучкового камбия также становятся деятельными, они индуцируют клетки стеблевой паренхимы.

Итак, клетки меристемы делятся, дочерные клетки достигают размеров материнской и снова делятся. Однако размер и объем меристем остаются постоянными, что связано с тем, что большинство меристематических клеток через несколько делений переходят к росту растяжением. Но есть инициальные клетки, которые делятся в течение всей жизни органа. Доказано, что апикальные меристемы состоят из двух типов клеток, отличающихся функциями и способностью к делению.

Меристематические клетки, расположенные на самом верху стебля или корня, не прекращают деления в течение всего периода роста. Эту зону роста для корня называют покоящимся центром, для стебля – меристемой ожидания. Более длительная способность к делению является следствием меньшей частоты делений и большей длительности интерфазы.

Клетки характеризуются большей длительностью митотического цикла, большей устойчивостью к неблагоприятным воздействиям.

В них реже возникают хромосомные aberrации. Клетки меристемы ожидания стебля менее дифференцированы. На фазе деления клетки, находящиеся в нижней части меристемы, начинают дифференцироваться. В них накапливаются физиологические и морфологические различия, обусловленные местоположением клетки, взаимодействием ее с другими клетками, а также генетической программой, которая в ней заложена.

Кинетика ростовых процессов

Если проследить за ростом клетки, части органа или всего растения на протяжении всего периода роста, то можно обнаружить большой период роста (закон Ю. Сакса, 1872 г.): медленный, постепенно ускоряющийся подъем скорости роста до максимума, который в течение того или иного времени остается постоянным, затем снижение до нуля. Прирост длины, объема, веса и т. д. идет по S-образной кривой, поэтому говорят о S-образном ходе роста.

На этой кривой выделяют несколько характерных участков: латентная, или лаг – фаза, во время которой отсутствует видимый рост; фаза экспоненциального роста (лог – фаза); фаза замедленного роста.

Во время лаг – фазы происходят процессы, подготавливающие видимый рост. Во время лог – фазы идет активный синтез гормонов и строительных материалов. Считают, что именно эта фаза и является «периодом большого роста». На фазе замедления роста число клеток, участвующих в митозах, постепенно уменьшается, нарастает вакуолизация. Замедление роста объясняется рядом внешних и внутренних факторов. Оно генетически запрограммировано, однако находится под влиянием внешних факторов.

Продолжительность фаз может значительно колебаться, в зависимости от внешних и внутренних факторов. Например, лаг – фаза у прорастающего семени может длиться от нескольких часов до многих месяцев. Увеличение продолжительности связывают с отсутствием стимуляторов или избытком ингибиторов роста, недоразвитием зародыша, недостатком воды или кислорода, отсутствием оптимальных температур.

Закон Ю. Сакса универсален. Однако наследственность и внешние факторы оказывают на него свое влияние; поэтому кривые Сакса могут иметь разную форму, то есть они специфичны. В некоторых случаях скорость роста может описываться и многовершинной кривой. Это наблюдается у косточковых плодов, рост которых на фазе максимального роста временно замедляется или совсем приостанавливается, или у цветоножек с максимумами во время образования цветков и завязывания плодов.

С неравномерностью роста связано изменение важнейших физиологических процессов.

Интенсивность роста растения или отдельных его органов определяют, измеряя длину, объем, поверхность, вес сырой и сухой биомассы растения и т. д. Определяют абсолютную скорость роста (прирост за какой-то промежуток времени); относительную скорость роста (прирост, вычисленный в процентах от исходного роста); удельную скорость роста, т. е. скорость превращения живой биомассы растения (или органа) за единицу времени.

Основные этапы развития растений

Развитие – это качественные изменения структуры и функциональной активности растения и его частей (органов, тканей, клеток) в процессе онтогенеза. Возникновение качественных различий между клетками, тканями и органами получило название дифференцировки. В понятие «развитие» входят также и возрастные изменения. Развитие высших растений подразделяют на четыре возрастных этапа: эмбриональный; ювенильный; репродуктивный (зрелость); старость.

Эмбриональный этап онтогенеза семенных растений – развитие зародыша от зиготы до созревания семени включительно.

Ювенильный этап – этап молодости – включает прорастание семян или органов вегетативного размножения и характеризуется накоплением вегетативной массы. Растения в этот период, как правило, не способны к половому размножению.

Репродуктивный этап – этап зрелости и размножения – характеризуется готовностью к зацветанию, заложением репродуктивных органов (цветков, органов вегетативного размножения), их ростом и развитием, формированием семян и плодов.

Этап старости и отмирания – период от полного прекращения плодоношения до естественной смерти организма.

Каждый из этих этапов включает, как правило, несколько фаз, закономерно следующих друг за другом.

Развитие организма зависит от генетической программы развития и повторяется из поколения в поколение. Закодированы не только морфологические признаки, но и время их появления. Развитие организма – это необратимое явление, так как в течение жизненного цикла происходят необратимые структурные и возрастные изменения всего организма, клеток, тканей, органов, усложняются взаимоотношения между частями растения. Однако в различных внешних условиях генетическая программа может реализовываться разными путями, давая разные модификации.

Таким образом, можно констатировать, что высшее растение – это прикрепленный фототрофный организм, который характеризуется постоянным ростом, наличием двух основных регуляторных центров (верхушка побега, кончик корня), высокой способностью к вегетативному размножению и регенерации. Его процессы роста и развития находятся под контролем генома и регулируются рядом внутренних и внешних факторов.

Реализация каждой генетической программы развития осуществляется при постоянно изменяющихся условиях внешней среды. Поэтому для растения определяющее значение имеет согласованность влияния внешних и внутренних факторов, участвующих в регулировании процессов роста и развития каждой клетки и всего организма в целом. Наиболее важные отличия растений от животных организмов касаются особенностей их роста и развития.

В связи с этим можно выделить три принципиальных различия: во-первых, растения, в отличие от большинства животных, способны размножаться неполовым, вегетативным, путем; во-вторых, у растений очень высока скорость и способность к регенерации при повреждении (за счет клеток меристематических тканей, а также дедифференцировки некоторых клеток в меристематические, образования каллусных тканей и формирования новых очагов деления и роста); в-третьих, растения растут в течение всей своей жизни; для них особенно важно функционирование апикальных меристем верхушки побега и корня, в которых постоянно идут процессы деления клеток; основной тип роста, за счет которого осуществляется наращивание массы растения, – растяжение.

Способность клеток к дифференцировке и формированию нового организма называют тотипотентностью.

Лекция 19. Фазы роста растений и их характеристики

Клеточные основы роста

Рост растений происходит в течение всего онтогенеза и обеспечивается постоянным функционированием апикальных меристем, которые формируют все части растительного организма. Апикальные меристемы главного побега и корня закладываются на ранних этапах развития зародыша. Они функционируют как два постоянно действующих эмбриональных центра растения. В основе роста лежит увеличение числа и размеров клеток, сопровождаемое их дифференциацией. Фазы роста – эмбриональная, растяжения и дифференцировки, но, как мы уже отмечали, такое деление носит условный характер, т. к. клетки могут делиться и на фазе растяжения. Важно то, что дифференцировка клетки (в смысле появления и накопления внутренних физиологических различий между ними) происходит на протяжении всех фаз и является важной особенностью роста клеток. На третьей фазе эти физиологические различия лишь получают внешнее морфологическое выражение. Все же ряд существенных отличий между фазами роста имеются, и это позволяет рассматривать их отдельно.

На эмбриональной фазе на конце растущей зоны находится эмбриональная ткань – первичная меристема. Состоит из одинаковых мелких клеток, имеющих тонкие оболочки, нет центральной вакуоли, сплошь заполнена протоплазмой. Клетки делятся, при этом их размеры остаются более или менее постоянными. Вслед за делением происходит увеличение массы живого вещества в каждой новой клетке до тех пор, пока она не достигнет размера материнской, после чего клетка делится. Увеличение размеров на этой фазе роста невелико. Эта фаза состоит из двух периодов: периода между делениями (интерфаза) и собственно деления клетки. Структура клетки на интерфазе имеет ряд особенностей: густая цитоплазма с хорошо развитой ЭПС, каналы которой узки, малое количество расширений, мелкие вакуоли, большое количество рибосом, многие из которых свободно располагаются в цитоплазме, много митохондрий, но у них слабо развиты кристы и густой матрикс; ядро – небольшого размера с крупным ядрышком; первичная клеточная оболочка пронизана плазмодесмами. Процессы обмена веществ интенсивны. Происходит самовоспроизведение ДНК.

В этот период происходят основные синтетические и энергетические процессы. Перед делением заметны изменения в энергетическом состоянии клетки. Во время интерфазы клетка имеет высокий энергетический потенциал (АТФ/АМФ). При переходе к митозу, благодаря глубокой структурной перестройке, наступает энергетическая разрядка – и энергия выделяется в виде коротковолнового излучения (В. Н. Жолкевич). В этот период интенсивность процессов обмена, в том числе и дыхания, падает.

Таким образом, на первой фазе роста увеличение объема происходит за счет деления и возрастания массы протоплазмы. Уже на этой фазе рост сопровождается формообразовательными процессами. Процесс деления клеток

зависит от соотношения ауксинов и цитокининов в ткани. Ключевыми ферментами, регулирующими входение клетки в клеточный цикл, переходы от одной фазы клеточного цикла к другой (G_1 -S- G_2 -митоз), являются циклинзависимые протеинкиназы.

На фазе растяжения идут значительные структурные и физиологические изменения. Объем клетки возрастает в 20–50 раз и даже в 100 раз. Особенности этой фазы: цитоплазма менее вязкая, более обводненная, каналы ЭПС расширяются; рибосомы прикрепляются к ЭР; изменяются митохондрии; увеличивается контакт митохондрий и ш.ЭПС. Кроме того, увеличивается поверхность ядра, уменьшается ядрышко. Мелкие вакуоли сливаются в одну, где накапливаются гидролитические ферменты, в вакуолях увеличивается содержание сахаров, аминокислот, т. е. растет содержание осмотически активных веществ. В клетке усиливаются метаболические процессы. Возрастание синтеза отдельных белков-ферментов происходит неравномерно, меняется их соотношение, что приводит к различным биохимическим и физиологическим особенностям. Повышается активность протеолитических ферментов, что способствует обновлению белков. Возрастает количество низкомолекулярных веществ как в цитоплазме, так и в вакуоли. Происходит необратимое увеличение объема, в основном – за счет усиленного поступления воды. Усиливается рост клеточной оболочки за счет новообразования ее составляющих.

Рост растяжением включает следующие этапы: рыхление связей между компонентами клеточной оболочки и увеличение ее пластичности (происходит снижение рН, что способствует разрыву как водородных, так и ковалентных связей между компонентами клеточной оболочки); поступление воды, которая давит на стенки, вызывая растяжение и увеличение объема клетки; закрепление увеличения объема путем многосетчатого роста оболочки (или образовавшиеся микрофибриллы целлюлозы внедряются в промежутки между старыми микрофибриллами, или сетка вновь образовавшихся микрофибрилл целлюлозы накладывается на старую). Процесс растяжения клеток контролируется ИУК. Это вызывает активацию локализованной в плазматической мембране H^+ -АТФазы и подкисление фазы клеточных стенок, что и приводит к их размягчению и растяжению.

На фазе дифференцировки, в зависимости от концентрации гормонов, питательных веществ, энергетических зарядов и т. д., происходят дерепрессия или репрессия определенных участков генома и, как следствие, морфологическая, биохимическая и функциональная дифференциация. Условия, способствующие этому, таковы: полярность; неравномерное деление; поверхностные свойства клеток. Ряд авторов считают, что отдельные ткани выделяют особые морфогенетические вещества, источник которых в первую очередь – меристема. Они участвуют в дифференциации клеток.

Дифференцировка – превращение эмбриональной клетки в специализированную. У клетки утолщаются клеточные оболочки за счет наслоения гемицеллюлозы и лигнина. Выросшие клетки дифференцируются, образуя

различные ткани. На этой фазе клетки не увеличиваются в размере, количество их остается прежним; поэтому линейный рост незначителен.

Существует три типа дифференцировки: структурная, или морфологическая, – это возникновение различий по морфологическим признакам (на клеточном уровне она выражается в различной толщине и структуре клеточной стенки, форме клеток, разной степени их вакуолизации, особенностях развития тех или иных органелл); биохимическая – возникновение различий по составу белков-ферментов, способности к синтезу запасных веществ или вторичных метаболитов и другие изменения в клетке, влияющие на обмен веществ; физиологическая (функциональная) – формирование различий, приводящих к выполнению разных функций. Биохимическая дифференцировка предшествует ее другим типам. На этой фазе возникает много клеток; при этом может происходить как усложнение, так и упрощение их структуры.

Таким образом, на каждой фазе идет рост клетки и новообразование ее структур; значительное же увеличение размеров клетки характерно только для фазы растяжения.

Особенности роста органов растений

В результате деления, растяжения и дифференцировки клеток возникают ткани и органы. У растений эти процессы происходят в меристемах. В апикальной меристеме побега различают тунику, или мантию, и корпус. Туника состоит из одного-трех или более поверхностных рядов клеток, которые делятся антиклинально (плоскость их деления и соответственно новые клеточные стенки перпендикулярны поверхности апекса). За счет антиклинальных делений происходит рост поверхности апикальной меристемы. Меристематические клетки, лежащие под туникой, называют корпусом. Его клетки делятся как антиклинально, так и периклинально (плоскость деления и новые клеточные стенки параллельны поверхности), что приводит к увеличению объема апикальной меристемы.

На основании преимущественной ориентации клеточных делений, формы и размера клеток, содержания РНК и функционального предназначения клеток в апексе выделяют три зоны: апикальную (центральную), субапикальную (стержневую) и периферическую (органогенную). Особенности апикальной меристемы: материнские клетки корпуса крупнее, вакуолизированы, ядро крупное, низкое содержание РНК в цитоплазме; во время вегетативного роста они делятся реже, чем другие клетки апикальной меристемы, заторможенность делений связана с длительностью периода G_1 ; когда апикальная меристема побега получает флоральный импульс и начинает формировать органы цветения, деление клеток в этой зоне активизируется. На основании этого французский цитофизиолог Р. Бюва назвал данную зону «меристемой ожидания».

Особенности периферической меристемы: мелкие клетки с плотной цитоплазмой и большим числом рибосом; зона дает начало первичной коре и прокамбию; в ней происходит закладка примордиев боковых органов вегета-

тивного побега – листьев, пазушных почек. Особенности сердцевинной меристемы: вакуолизированные клетки с низким содержанием РНК образуют вертикальные клеточные ряды; эта меристема формирует сердцевину стебля. Ни одну из этих зон (кроме первого слоя клеток туники, формирующего эпидерму) нельзя назвать гистогеном, т. к. они не формируют какую-либо определенную систему тканей в теле растения, их границы изменчивы и не всегда различимы.

Апикальная меристема корня является гетерогенной популяцией клеток, отличающихся размерами и продолжительностью клеточного цикла. В апексе корня имеются три гистогена (теория И.Ганштейна), из которых формируются ткани корня. Верхушечная меристема корня, в отличие от верхушечной меристемы стебля, короче и не образует боковых органов. Однако она образует не только клетки самого корня, но и клетки корневого чехлика. Между активной меристематической зоной и корневым чехликом тоже имеется покоящийся центр.

Особенности покоящегося центра (ПЦ): низкая скорость синтеза нуклеиновых кислот и белка; скорость деления в 10 раз меньше скорости деления соседних меристематических клеток, меньшее количество плазмодесм и т. д.; клетки устойчивы к стрессовым факторам, в связи с этим ПЦ способен осуществлять регенерацию апикальной меристемы при ее повреждении. Активация делений в ПЦ происходит при выходе растений из состояния покоя, удалении корневого чехлика, гибели части клеток проксимальной меристемы клеток ПЦ.

Причина замедленного деления клеток в ПЦ: интенсивная митотическая активность окружающих клеток, которые перехватывают питательные вещества и фитогормоны; действие АБК. Меристематические клетки находятся на эмбриональной фазе. Растягивающиеся клетки составляют зону растяжения корня или стебля. В результате в таких органах, как стебель и корень, можно выделить зону интенсивного роста органа, наличие которой является одним из отличий роста растений от роста животных. В листе деления на зоны нет; среди растягивающихся есть делящиеся клетки, а дифференцировка может совпадать с растяжением.

У животных в течение жизни происходит лишь увеличение размеров заложенного перед рождением органа, а у растений – заложение и увеличение размеров органа идет параллельно в течение всего онтогенеза. Имеются различия и в характере роста отдельных органов самого растения. Стебли и корни растут своей верхушкой, у листьев рост происходит в основном у основания. При этом рост листьев ограничен. Кстати, ограниченный рост характерен и для животных. Рост корней и стеблей растения не ограничен и продолжается в течение всей жизни.

Корреляции ростовых процессов различных органов, регенерация

Все органы растения взаимосвязаны, влияют на рост друг друга. Влияние одних частей организма на скорость и характер роста других называют корреляцией. Механизмы взаимодействия частей растительного организма, сформированные в ходе развития зародыша, продолжают функционировать и усложняются в течение дальнейшего онтогенеза растения. Это взаимодействие происходит с участием трофических факторов, фитогормонов и электрических явлений, причем особую роль играют функциональная активность апикальных меристем побега и корня (доминирующих центров) и посылаемые ими сигналы.

В растении осуществляется регуляция процессов роста и морфогенеза, функциональной активности и двигательных реакций. В начале развития в растение закладываются все его органы, затем идут прорастание и переход к автотрофному типу питания, формирование вегетативной массы, осуществление процессов полового и вегетативного размножения.

На всех этих этапах происходит перестройка коррелятивных связей, что обеспечивает выполнение последовательно включающихся генетических программ. Важнейшим элементом этих процессов является относительный рост различных частей, т. е. коррелятивный рост.

Побег и корень – две главные части растения. Они выполняют функции воздушного и корневого питания. Главными факторами коррелятивных взаимосвязей «побег – корень» являются фитогормоны. Верхушка побега и в меньшей степени молодые листья синтезируют и экспортируют ИУК, которая ответственна за включение общей генетической программы корнеобразования и влияет на рост и морфогенез корня. Кончик корня вырабатывает цитокинины, которые поступают в надземную часть; они ответственны за включение программы побегообразования, рост и функциональную активность листьев. Следовательно, между верхушкой побега и кончиком корня с помощью фитогормонов устанавливается обратная положительная связь, что лежит в основе саморазвития целого растительного организма.

Цитокинин корней активирует синтез белков, хлорофилла, оказывает поддерживающее влияние на функциональную активность зрелых листьев, создавая условия для интенсивного фотосинтеза. Цитокинин способствует открыванию устьиц, что благоприятствует фотосинтезу. Из корней в надземную часть транспортируются гиббереллины, затем они начинают вырабатываться в формирующихся листьях, рост которых стимулируется цитокининами корней.

Цитокинины и гиббереллины активируют синтез и транспорт ауксина. В корнях синтезируются метаболиты, необходимые для побега. Между побегом и корнем регистрируются электрические градиенты, генерируется потенциал действия при изменении условий среды. Возникает сложная многофак-

торная система взаимосвязей с участием гормональных, трофических, электрических компонентов и соответствующих рецепторов в клетках.

В ходе онтогенеза лидерство доминирующих центров и их взаимосвязи меняются. Между всеми органами побега также существуют коррелятивные взаимоотношения. Развивающаяся апикальная почка ингибирует рост пазушных почек, т. к. апикальная почка главного побега вырабатывает большое количество ИУК, что позволяет ей конкурировать с пазушными почками за трофические факторы и фитогормоны, прежде всего – за цитокинины.

Хорошо выражено явление апикального доминирования у корней. Боковые корни не появляются вблизи апекса корня. Все эти ростовые корреляции связаны с деятельностью апикальной меристемы корня и поступлением ИУК из надземной части. Следовательно, роль ауксина в апикальной почке заключается в создании мощного аттрагирующего центра, в результате чего не только питательные вещества, но и цитокинин, образовавшийся в корнях, поступает преимущественно в апикальную почку.

Приток цитокинина к пазушным почкам после устранения апикальной усиливает в них клеточное деление. Формирующиеся в почках листовые зачатки начинают синтезировать ауксин, необходимый для дальнейшего стабильного развития боковых побегов. Развивающаяся верхушечная почка также влияет на рост клеток в зонах растяжения побега и корня, индуцирует формирование проводящих пучков. Ориентация листьев, боковых побегов и корней зависит от функциональной активности верхушки.

Цитокинин синтезируется в кончике корня и с ксилемным соком перемещается в верхушки побегов и в листья. Он контролирует образование примордиев листьев, их рост и трофику. В апексе корня вырабатывается АБК, который наряду с ИУК, участвует в регуляции роста корня. Гормональное взаимодействие доминирующих центров побега и корня – важнейший эндогенный механизм роста и морфогенеза в целом растении. К этому добавляется взаимодействие доминирующих центров с листьями, вырабатывающими гиббереллины и АБК (В. В. Полевой).

Таким образом, один из важнейших механизмов коррелятивного роста – это донорно-акцепторные отношения. В результате корреляции могут меняться скорость и характер роста, расположение органов в пространстве. Корреляция связана с полярностью.

Полярность организма – это специфическая ориентация активности в пространстве. Ее можно обнаружить при регенерации – восстановлении организмом утраченных или поврежденных частей тела, органов. Регенерация возможна благодаря тотипотентности клеток. В естественных условиях регенерация – способ защиты растений и основа вегетативного размножения.

Если исходить из физиологических механизмов, то способы регенерации можно классифицировать следующим образом: физиологическая; травматическая. Регенерация, обусловленная дедифференцировкой клеток: а) заживление ран; б) органогенез, обусловленный образованием каллуса; в) вос-

становление частей без образования каллуса; г) соматический эмбриогенез. Регенерация с участием меристем: а) восстановление апикальной меристемы; б) органогенез из предшествующих зачатков; в) органогенез из новообразованных адвентивных зачатков.

В ходе физиологической регенерации восстанавливаются части, перенесшие естественное изнашивание. Пример – постоянное восполнение сдвигающихся клеток корневого чехлика, замена старых элементов ксилемы новыми и т.д.

Травматическая (репаративная) регенерация бывает 2-х видов: регенерация, обусловленная дедифференцировкой клеток; регенерация с участием меристем. Вот примеры регенерации, обусловленной дедифференцировкой клеток, заживление ран: ткани, оказавшиеся на поверхности раны, дедифференцируются, их клетки начинают периклинально делиться, образуют феллоген, превращающийся в пробку; поверхность раны может затягиваться каллусной тканью; начальный этап дедифференцировки клеток на поверхности раны аналогичен описанному выше.

Клетки, дедифференцируясь, переходят к неорганизованному делению, возникает каллусная ткань.

При соматическом эмбриогенезе каллус на поверхности образуется так, как описано выше. Из отдельных клеток каллуса, начинающих организованно делиться, формируются соматические зародыши, из которых может развиваться целый организм.

При восстановлении частей без образования каллуса идет формирование адвентивных побегов из единичных эпидермальных клеток на некотором удалении от раневой поверхности, а также превращение паренхимных клеток коры в клетки ксилемы при образовании обходного участка проводящего пучка вокруг места его прерывания.

Направление регенерации проводящих элементов определяется прежде всего базипетальным транспортом ауксина, который индуцирует генетическую программу ксилемообразования. Другие пути восстановления утраченных частей у растений связаны с деятельностью апикальных или латеральных меристем.

Регенерация с участием меристем наблюдается при восстановлении апикальной меристемы. При продольном рассечении конуса нарастания из каждой половины могут регенерироваться отдельные апексы. Конус нарастания как побега, так и корня регенерируется при удалении небольшого участка его дистального конца. У развивающегося молодого листа папоротника восстанавливается отрезанная меристематическая верхушка.

Органогенез из предшествующих зачатков осуществляется при восстановлении надземных органов у высших растений за счет отрастания покоящихся почек (при устранении доминирующего влияния апикальной почки побега).

Повреждение или частичное удаление дистальной части корневой системы способствует росту зачатков боковых корней вследствие устранения

действия кончика корня. Органогенез из новообразованных адвентивных зачатков из них в стеблевых черенках идет с образованием корней благодаря активации периклиналильных делений в камбии или в перицикле, выполняющих функции латентных меристем. Индукция деления клеток связана с действием ИУК, которая, перемещаясь базипетально, накапливается в нижней части черенка.

Для процессов эмбриогенеза и регенерации наиболее важны последовательная индукция определенных генетических программ и морфо-физиологическая ориентация в пространстве. Запуск генетических программ осуществляется специфическими химическими и физико-химическими факторами, а ориентация в пространстве создается полярностью, в основе которой лежат прежде всего мембранные процессы. Клетки получают сигналы из внешней и внутренней среды, корректируются их функциональная активность, считка генетической информации и векторы поляризации. Такая корректировка получила название «эффекта положения». Регенерация возможна на разных уровнях организации живой материи.

Лекция 20. Регуляция ростовых процессов

Влияние внутренних и внешних факторов на рост и развитие растений

На рост растения оказывают влияние многие факторы внешней среды, прежде всего – физические: свет, сила тяжести, газовый состав, магнитное поле, влажность, минеральные и органические вещества и механические воздействия. Кроме того, растение испытывает влияние продуктов жизнедеятельности других растений, а также физиологически активных веществ микроорганизмов. Внешние факторы могут вызывать в организме прямые и индуктивные эффекты.

При прямых эффектах, если только речь не идет об обратимых или необратимых повреждениях, действие внешних факторов чаще всего связано с притоком энергии или ее отнятием. Эффект продолжается до тех пор, пока действует внешний фактор. Примеры – свет как источник энергии для фотосинтеза, зависимость роста от температуры.

При индуктивных эффектах внешний фактор поставляет или отнимает лишь столько энергии, сколько нужно, чтобы привести в действие пусковой механизм, который включает процесс, происходящий за счет внутренних источников энергии. Эффект нередко продолжается и тогда, когда внешний фактор больше не действует. Примеры – стимуляция прорастания семян или образование цветков под действием низких температур или света.

Свет оказывает глубокое и многообразное воздействие на внешнее строение растений. Свет влияет на дыхание и прорастание семян, образование корневищ и клубней, формирование цветков и сексуализацию, листопад и переход почек в состояние покоя. В отсутствие света происходит упрощение анатомической структуры стебля. Слабо развиваются ткани центрально-

го цилиндра, механические ткани. Свет в явлениях фотоморфогенеза выполняет сигнальную роль, включает цепь событий, завершающуюся морфогенетическим ответом. У растений обнаружены системы, рецептирующие фотоморфогенетически активный свет (фитохром и пигменты, поглощающие синий свет).

Эндогенная регуляция осуществляется на внутриклеточном, межклеточном и организменном уровнях. На уровне клетки действуют: метаболическая (или регуляция активности ферментов), т. е. воздействие неспецифическими физико-химическими факторами, изостерическая регуляция активности ферментов на уровне их каталитических центров, аллостерическая регуляция, активация зимогена, связывание и освобождение ферментов; генная регуляция; регуляция на уровне репликации, транскрипции, процессинга, трансляции; мембранная регуляция. Выделяют такие межклеточные системы регуляции: трофическую, гормональную, электрофизиологическую. Организменный уровень организации характеризуется доминирующими центрами, полярностью, канализированными связями, осцилляциями, регуляторными контурами. Эти системы управления мы разберем подробно в курсах «Регуляция процессов жизнедеятельности растений» и «Теория гормональной регуляции».

Физиологические основы действия фитогормонов

Гормоны – это главные факторы регуляции и управления у растений. Фитогормоны – это сравнительно низкомолекулярные органические вещества с высокой физиологической активностью. Они присутствуют в тканях в очень низких концентрациях; с их помощью клетки, ткани и органы взаимодействуют друг с другом. Обычно фитогормоны вырабатываются в одних тканях, а действуют – в других, однако в ряде случаев они функционируют в тех же клетках, в которых образуются. Характерной особенностью их является то, что они включают целые физиологические и морфогенетические программы (корнеобразование, созревание плодов и др.).

Фитогормоны – это производные аминокислот (ИУК), нуклеотидов (цитокинины), полиизопренов (гиббереллины, АБК), непредельных углеводов (этилен).

Среди гормонов растений имеются лишь органические соединения с молекулярной массой от 28 (этилен) до 346 (гиббереллины). В растениях не найдены гормоны белковой или полипептидной природы.

В «свободном» физиологически активном состоянии фитогормоны присутствуют в крайне низких концентрациях, порядка 10^{-10} – 10^{-3} М, и в этих же концентрациях проявляют свое физиологическое действие.

Фитогормоны, как правило, вырабатываются в одних клетках и тканях, а действуют в других, что и позволяет использовать их для взаимодействия различных частей растения.

Растительные гормоны включают и регулируют физиологические или морфогенетические программы. Способ их действия заключается, вероятно,

в том, что в качестве эффекторов они взаимодействуют с регуляторными субъединицами в мембранах и с регуляторными белками генного аппарата.

Выделяют пять групп фитогормонов: ауксины; гиббереллины; цитокинины; абсцизины; этилен.

Каждый из фитогормонов – это основа системы, которая включает: ферменты, кофакторы и ингибиторы его синтеза; ферменты связывания (конъюгирования) и освобождения гормона из связанного состояния; способы мембранного и дальнего транспорта; механизмы действия, которые определяются наличием рецепторов и их локализацией; ферменты, кофакторы и ингибиторы разрушения фитогормона. В свою очередь, системы отдельных фитогормонов связаны в единую гормональную систему. Эта связь осуществляется на уровне как метаболизма фитогормонов, так и механизма их действия.

При повышении концентрации ИУК в клетках возрастает синтез этилена; это же явление отмечается и при действии гиббереллинов и цитокининов, хотя и в меньшей степени. Этот эффект связан с индуцирующим действием фитогормонов на синтез фермента, участвующего в превращении предшественника этилена в этилен. Рост содержания тормозит полярный транспорт ауксина, увеличивает его конъюгирование, что приводит к снижению содержания свободного ауксина. Высокое содержание этилена способствует повышению концентрации АБК, что тормозит синтез этилена. Под действием цитокининов возрастает содержание ИУК и гиббереллинов, которые также способствуют увеличению ИУК.

По спектру физиологического действия все фитогормоны поливалентны, т. е. оказывают влияние на синтез нуклеиновых кислот, белков, активность ферментов, интенсивность дыхания, деление, рост, дифференцировку клеток и др. Специфичность их действия определяется их соотношением. Например, повышение ИУК относительно цитокинина включает программу корнеобразования, а повышение цитокинина – программу побегообразования.

Фитохромная и криптохромная системы. Электрофизиологические процессы роста

Фитохромная система. Для оценки качества и количества квантов в красной области у растений есть фоторецептор – фитохром, состоящий из фитохромобилина (пигмент аналогичен фикобилину водорослей) в комплексе с белком. Фитохром может находиться в двух основных формах: красной (Φ_{660}) и дальней красной (Φ_{730}). При облучении красным светом (660 нм) фитохром Φ_{660} трансформируется в форму Φ_{730} . Трансформация приводит к некоторому изменению конфигурации хромофора (фитохромобилина) и незначительной конформации белка.

У водорослей и папоротников отмечена переориентация хромофора относительно белка. Доказано, что фотопревращение $\Phi_{660} \rightarrow \Phi_{730}$ приводит к локализованному изменению поверхности белка в домене, который обеспе-

чивается присоединение его к мембране (увеличивается гидрофобность, доступность для действия протеаз и т.д.). Переходы $\Phi_{660} \rightarrow \Phi_{730}$ и $\Phi_{730} \rightarrow \Phi_{660}$ осуществляются через ряд интермедиатов.

При определенных условиях освещенности существует динамическое равновесие между основными формами фитохрома, т. к. спектры Φ_{660} и Φ_{730} имеют перекрывающиеся участки в красной – дальней красной и синей областях. На протяжении большей части дня соотношение энергии красных и дальних красных лучей составляет 3 : 1, что благоприятствует превращению Φ_{660} в Φ_{730} . В темноте преобладает Φ_{660} , т.к. именно в этой форме синтезируется фитохром. Φ_{660} более устойчив, а активная форма Φ_{730} нестабильна в тканях.

Фитохром обнаружен у всех зеленых растений, даже у сине-зеленых водорослей и некоторых гетеротрофных организмов; он найден во всех органах растения. К реакциям, регулируемым фитохромной системой, относятся такие: ингибирование роста стебля, открытие крючка гипокотилия, развертывание семядолей, дифференциация эпидермиса и устьиц, образование элементов ксилемы, ориентация хлоропластов, фотопериодическая реакция растения и др.

На основании сигналов фитохромной системы растение изменяет стратегию роста: готовится к фотосинтезу или все силы расходует на рост, его семена прорастают или «ждут» более благоприятного освещения и т. д. Все процессы, контролируемые фитохромной системой, делятся на два типа: усиливающиеся (синтез антоциана, прорастание семян и др.) и тормозящиеся (рост стебля, удлинение гипокотилия) под влиянием красного света.

Воздействие Φ_{730} может проявляться быстро, что связано, вероятно, с изменением свойств мембран (накопление Φ_{730} в мембране влияет на их проницаемость, изменяет электрический потенциал, вызывает определенный биологический эффект), и медленно (фитохром вызывает либо активацию, либо дерепрессию части генома). Фитохромы влияют на образование ряда ферментов и активность фитогормонов. Полагают, что действие фитохрома на геном опосредовано фитогормонами.

Многие процессы фотоморфогенеза, контролируемые фитохромом, связаны либо с кратковременным освещением малой интенсивности, т. е. с низкоэнергетическими реакциями (подавление удлинения междоузлий, ускорение роста листа, выпрямление крючка гипокотилия и др.), либо с более длительным и более интенсивным облучением, т. е. высокоэнергетическими реакциями (нормальный рост побегов).

Криптохромная система. Многие процессы растений контролируются ближним ультрафиолетовым и синим светом (320–500 нм). Синий свет важен для фототропизма, движений устьиц, синтеза каротиноидов, антоцианов, а также явлений фотоморфогенеза. Пигмент, рецептирующий синий – ближний ультрафиолетовый свет, назвали криптохромом. Этот рецептор присутствует у всех растений. Он локализован в ядрах. Физиологический спектр действия криптохрома совпадает как со спектром флавинов (криптохром I),

так и со спектром птеринов (криптохром II). Криптохром I дает «приблизительный» сигнал, а криптохром II – более точный.

Существует три гипотезы работы криптохрома I:

происходит самовосстановление молекулы криптохрома с изменением ее конформации, что активирует вторичные мессенджеры;
в систему передачи сигнала вовлечен промежуточный редокс-партнер;
партнеру передается не электрон, а возбуждение квантом синего света, и этот квант приводит в действие еще одну хромофорную молекулу.

Если эффективное взаимодействие не состоялось, возбужденное флавиновое ядро теряет энергию (флуоресцирует).

Благодаря спектральным свойствам птерина, криптохромы поглощают кванты как из синей области, так и из ближней ультрафиолетовой, поэтому криптохромы рассматривают как возможные УФ – фоторецепторы.

Криптохромная и фитохромная системы дополняют друг друга. В настоящее время предложены три гипотезы действия света:

через генетический аппарат;
через регуляцию уровня или активности фитогормонов;
путем влияния на функциональную активность мембран.

Для осуществления координации между отдельными клетками, тканями в организме вырабатываются фитогормоны.

У растений для регуляции физиологических и морфогенетических процессов используются электробиологические явления. Эта регуляция осуществляется на базе электротонических потенциалов и потенциала действия. Клетки растения взаимосвязаны мембранной фазой через плазмодесмы. Например, при изменении мембранного потенциала в каких-либо клетках между этими и соседними клетками возникает разность потенциалов.

Электротонические поля и токи

Между всеми частями растения существует разность потенциалов, которая изменяется сравнительно медленно. Апикальная почка двудольных растений заряжена положительно по отношению к основанию стебля.

Проростки кончика корня и зона корневых волосков заряжены положительно по отношению к зоне растяжения. Между этими участками возникают токи порядка 0,1 – 0,4 мкА, которые медленно изменяются, в том числе и в ритме колебаний. Эти электротонические разности потенциалов имеют функциональное значение. Следствием всякого изменения микроструктуры электрических полей в тканях может быть перераспределение подвижных белковых компонентов в мембранах, в результате чего возникает новое физиологическое состояние клеток.

Потенциал действия (ПД)

При кратковременном воздействии стрессовых факторов в клетке развивается ПД, который может быть местным или распространяющимся. Он обусловлен ионными потоками через плазмалемму. Из цитоплазмы выходят

ионы Cl^- , а входят в нее катионы Ca^{+2} и, возможно, H^+ . Это обусловлено не только электрическим потенциалом, но и тем, что в клеточных стенках концентрации Ca^{+2} и H^+ на 2 – 3 порядка выше, чем в цитоплазме. Вход катионов и выход Cl^- приводит к деполяризации мембранного потенциала (МП), что способствует открытию потенциалзависимых калиевых каналов, и K^+ , выходя по электрохимическому градиенту из клетки, гиперполяризует мембранный потенциал. Затем ионные насосы возвращают ионное равновесие в исходное состояние.

Таким образом, возникает типичный ПД – электроотрицательный импульс. Амплитуда этого импульса достигает 100–160 мВ, а длительность – от 0,5 до нескольких десятков секунд. У высших растений распространение ПД происходит по проводящим пучкам стеблей. Скорость распространения у большинства растений – 0,08–0,5 см/с.

При действии на листья различных факторов электрический сигнал передается корням, а через несколько секунд изменяется их функциональная активность, например скорость поглощения катионов. У проростков ПД возникает даже при сравнительно незначительных изменениях температуры (около 3–5 °C). Это указывает на существование у растений быстрой электрической связи, однако объем информации, передаваемой таким образом, очень мал.

Все системы межклеточной регуляции растений (трофическая, гормональная, электрофизиологическая) тесно взаимосвязаны. Например, ИУК, действуя на функциональную активность мембран, оказывают влияние на электрофизиологические градиенты между различными частями растения, которые, в свою очередь, участвуют в процессе транспорта как фитогормонов, так и трофических факторов.

Каждая из этих систем действует на клетки через системы внутриклеточной регуляции, т. е. изменяя функциональную активность ферментов и мембран, влияя на интенсивность и направленность синтеза нуклеиновых кислот и белков. Создается единая иерархическая система регуляции, определяющая взаимодействие всех частей растения.

Лекция 21. Ростовые движения растений

Процессы раздражимости и возбудимости

Живые организмы способны реагировать на изменения в среде, но не на все. Эти изменения должны обладать определенной степенью интенсивности – порогом действия. Изменения окружающей среды, оцениваемые живой системой, называются раздражителями, которые могут быть как внутренними, так и внешними. Однако во всех случаях они будут внешними по отношению к конкретной клетке. В качестве раздражителей могут выступать свет, температура, влажность, различные химические вещества, электромагнитные поля и др.

Все раздражители можно разделить на три группы: физические (температура, свет и др.); физико-химические (изменения осмотического давления, реакции среды, электролитного состава, коллоидного состояния); химические (гормоны, яды и др.); биологические (микроорганизмы, насекомые и др.).

По физиологическому значению раздражители делят на адекватные, т. е. действующие на данную биологическую структуру в естественных условиях, к восприятию которых она специально приспособлена и чувствительность к которым у нее очень высока, и неадекватные, для восприятия которых клетка, орган специально не приспособлены, а поэтому реакции на такие воздействия могут привести к повреждениям.

Возбуждение – процесс преобразования внешней энергии, происходящий в клетке под влиянием внешних раздражителей. Способность к возбуждению называется возбудимостью. Возбудимость – способность клеток переходить в функционально активное состояние в ответ на действие раздражителя. Она является неотъемлемым компонентом раздражимости, присуща всем живым клеткам. Явление раздражимости, или возбудимости, с одной стороны, лежит в основе взаимодействия организма как целой системы с элементами его внутренней среды, а с другой – определяет реакцию организма на внешние факторы. Поэтому свойство раздражимости обеспечивает и целостность растительного организма, и его адекватную реакцию на изменение факторов внешней среды.

Свойством возбудимости обладает цитоплазма любых клеток. Клетки, их группы или отдельные белковые структуры, обладающие повышенной чувствительностью к определенным видам раздражителей, обусловленной особенностью их строения, называются рецепторами. У растений обнаружены фото-, хемо- и механорецепторы.

Функциональная активность фоторецепторов обеспечивает фототаксисы, фототропизмы, фотонастии и восприятие фотопериодических сигналов. Хеморецепция позволяет растительным организмам реагировать на аттрактанты, трофические факторы внешней среды (хемотаксисы, хемотропизмы) и фитогормоны. Механорецепция лежит в основе таких явлений, как геотропизмы, тигмотропизмы, сейсмонастии.

В целом, взаимодействие стимула внешней среды с рецепторной клеткой происходит на плазматической мембране. В плазматической мембране рецепторных клеток локализованы особые белковые молекулы, которые первыми взаимодействуют с раздражителем.

Воздействие раздражителя на белковую молекулу изменяет ее связи с соседними липидами и белками и приводит к изменению проницаемости всей плазматической мембраны, ионного равновесия, деполяризации и появлению рецепторного потенциала.

Первоначально происходит специфическое взаимодействие раздражителя с белком, т. е. кодирование. Кодирование стимула является пусковым (триггерным) механизмом общего возбуждения рецепторной клетки. Затем происходят изменения электропотенциалов и другие процессы. Следова-

но, реакция организма на изменения в окружающей среде состоит из трех этапов: возникновение возбуждения в месте действия раздражителя; передача возбуждения к месту реализации ответной реакции; сама ответная реакция. У простейших и растений может отсутствовать второй или третий элемент ответной реакции организма на действие раздражителя.

В ответ на любое раздражение специализированная клетка, ткань, орган реагируют неспецифически, т. е. реакциями, являющимися основными функциями этих образований. Признаки возбужденного состояния клеток: отрицательный электрический заряд, всегда появляющийся на поверхности возбужденного участка по отношению к невозбужденному; освобождение и выход из клеток некоторых ионов, например калия; резкая активация обмена веществ, сопровождающаяся повышением температуры. Механизм возникновения и распространения возбуждения в растениях связан с изменениями ионной проницаемости и колебаниями мембранного потенциала клеток, по которым перемещается импульс ПД.

Типы движения растений и их механизмы

Изменения расположения органов растения в пространстве, обусловленные разными внешними факторами, называют движениями растений. Двигательная активность необходима для питания, защиты, размножения. У большинства растений движения не удастся пронаблюдать, т. к. они происходят очень медленно. Некоторые растения обладают быстрыми двигательными реакциями (мимоза стыдливая, мухоловка и др.). В некоторых случаях движение растений достигается за счет верхушечного роста (пыльцевые трубки и др.). Для подавляющего большинства растений характерный способ перемещения – рост растяжением.

В основе движения растений лежат осмотические процессы. Способы движения растений: внутриклеточный (движение цитоплазмы и органоидов); локомоторный с помощью жгутиков (таксисы); верхушечный (корневые волоски, пыльцевые трубки, протонема мха); ростовой (удлинение осевых органов, круговые нутации, тропизмы, ростовые настии); тургорной (движения устьиц, медленные тургорные движения – настии, быстрые тургорные движения – сейсмонастии); механический (растрескивание плодов и т. д.).

Внутриклеточные движения. Есть несколько типов движения цитоплазмы: колебательное, циркулярное, ротационное, фонтанирующее, идущее по типу прилива, челночное. В растительной клетке цитоплазма находится в постоянном движении. Колебательное свойственно клеткам водоросли *Spirogyra*, водного гриба *Achlya*. При этом движении нет упорядоченного перемещения клеточных компонентов (одни частицы движутся к центру, другие – к периферии, третьи – находятся в покое).

Циркуляционное характерно клеткам, у которых есть протоплазматические тяжи, пересекающие вакуоль (волоски огурцов, тычиночные нити

традесканции и т. д.). Потоки цитоплазмы, проходящие через вакуоль, все время меняют свой вид.

Ротационное движение наблюдается в клетках с большой центральной вакуолью; при этом цитоплазма находится на периферии клетки и движется подобно приводному ремню (водные растения).

Фонтанирующее движение свойственно клеткам, обладающим верхушечным ростом (корневые волоски, пыльцевые трубки). В толстом центральном тяже протоплазма движется к кончику клетки, а постоянный слой – в обратном направлении.

При движении по типу прилива (гифы грибов) движение происходит рывками по направлению к растущей верхушке гифы.

Челночное движение наблюдается, например, у миксомицетов. В одном из направлений постепенно возрастает скорость тока цитоплазмы, после достижения максимальной скорости наступает резкая остановка и начинается движение в противоположном направлении.

Полагают, что движущую силу цитоплазмы могут обуславливать взаимодействия актиновых филаментов с миозином эндоплазма, который обладает АТФ-азной активностью, а также взаимодействия актиновых микрофиламентов с микротрубочками эктоплазмы, связи между ними возникают на границе экто- и эндоплазмы. Движение цитоплазмы идет с затратой АТФ; необходимы ионы кальция. Изменение уровня кальция в цитоплазме – важный регулятор структуры сократительных белков. Однако высокие концентрации кальция приводят к желатинизации цитоплазмы и прекращению движения.

Движение органоидов. Органоиды растения не только пассивно переносятся с током цитоплазмы, но и обладают автономными движениями. Например, хлоропласты через миозин связаны с пучками цитоплазматических микрофиламентов, которые взаимодействуют с филаментами актина. Движение с участием АТФ возникает при взаимодействии актина и миозина благодаря изменению угла наклона молекул миозина по отношению к актину.

Локомоторный способ движения. В основе этого движения лежит функционирование систем сократительных белков, обеспечивающих превращение энергии АТФ в механическую энергию. Локомоторные движения у растений присущи клеткам, перемещающимся с помощью жгутиков.

Верхушечный рост. Это высокополяризованный тип роста, в клетках соблюдается строгая пространственная локализация интенсивности синтеза стенки вдоль ее продольной оси. Рост происходит в ходе активного локального секреторного процесса. Для верхушечного роста характерно отсутствие в цитоплазме куполообразного кончика микротрубочек, которые появляются в цилиндрической части клетки. Для процесса секреции необходим кальций. При данном типе роста важен транспорт секреторных везикул к кончику клетки. Везикулы доставляют материал для синтеза стенки, синтазы и литические ферменты.

Ростовые движения. Удлинение осевых органов – движение за счет роста растяжением. Данный тип включает образование центральной вакуоли, накопление в ней осмотически активных веществ, поглощение воды, размягчение и растяжение клеточных стенок. Растяжение регулируется гормональной системой, в которой основную роль играет ИУК. В комплексе с рецепторами активирует синтез белков и РНК. Данная активация необходима для поддержки начавшегося роста растяжением.

Усиление дыхания обеспечивает энергетические затраты на все эти процессы.

Круговые нутации. Нутации – круговые или колебательные движения органов растения, в ряде случаев имеющие эндогенный (автономный) характер. Растущий побег качается, его верхушка колеблется относительно продольной оси. Аналогичные колебания наблюдаются при росте корня. Это круговые нутации. Они осуществляются за счет идущих по кругу местных ускорений роста клеток в зоне растяжения. В основе ростовых нутаций стеблей и корней лежат геотропическая корректировка в гравитационном поле и автотропизм. Круговые нутации хорошо выражены у стеблей вьющихся растений. Движение вьющихся растений зависит от присутствия гиббереллинов и флавоноидов. Усики лазающих растений тоже совершают круговые нутации, однако они носят эндогенный характер.

Тропизмы – изменения положения органов, вызываемые односторонне действующим раздражителем. Тропизмы связаны с более быстрым ростом растяжением клеток на одной стороне стебля, корня, листа, черешка. Согласно теории Холодного-Вента, под влиянием односторонне действующих раздражителей в органах индуцируется поперечная электрополяризация тканей, в результате чего транспорт ИУК, а следовательно, и рост, становятся асимметричными.

В механизме тропизмов принимают участие и другие фитогормоны (например, абсцизовая кислота в корнях). В зависимости от природы раздражителя различают фото-, гео-, хемо-, тигмо-, электро-, гидро-, аэро-, термо-, авто- и травматотропизмы.

При положительных тропизмах движение направлено в сторону раздражающего фактора, при отрицательных – от него. Органы, располагающиеся вдоль градиента раздражителя, называются ортотропными, под прямым углом – диатропными, под любым другим углом – плагиотропными.

С помощью тропизмов осуществляется такая ориентация органов в пространстве, которая обеспечивает наиболее эффективное использование факторов питания, служит для защиты от вредных воздействий. В природных условиях на растение одновременно действуют несколько факторов. Реакция организма возникает в ответ на более сильное раздражение. Следовательно, возможно доминирование одного из раздражителей. Растение способно не только воспринимать раздражения и проводить возбуждение к эффектору, но и оценивать значение этого раздражителя.

Ростовые настии. Настии – это обратимое движение органов растения, вызываемое раздражителем, не имеющим строгого направления, а действующим равномерно на все растение. Название настий, как и тропизмов, зависит от природы раздражителей. К настическим движениям способны лишь двусторонне-симметричные органы (листья, лепестки). Настические движения обеспечивают защиту органов от повреждающих воздействий, захват предметов. Направленность настий определяется структурой органа, совершающего движение. Предполагают, что данный тип движения происходит благодаря неравномерному росту разных сторон лепестков: если быстрее растет верхняя сторона, происходит эпинастия, если нижняя – гипонастия. При открывании и закрывании цветков идет рост клеток соответственно верхней или нижней стороны. Если процессы повторяются много раз, лепестки удлиняются. Неравномерный рост, возможно, обусловлен фитогормонами.

Тургорные движения. Движение устьиц – пример обратимых медленных тургорных настических движений. Эти движения обусловлены особенностью строения клеточных стенок замыкающих клеток. Утолщенной и не растяжимой является та часть оболочки, которая обращена к устьичной щели. Остальная часть замыкающей клетки покрыта тонкой клеточной стенкой, способной эластически (обратно) растягиваться. Такое строение приводит к тому, что при возрастании тургорного давления и увеличении объема вакуолей замыкающих клеток устьичные щели открываются.

Степень открытия зависит от освещенности, уровня углекислоты в тканях и их оводненности. Открывание устьиц зависит и от выхода ионов водорода из замыкающих клеток.

Этот процесс связан с активацией H^+ – помпы плазмалеммы в ответ на действие раздражителей. Увеличение в вакуолях объема замыкающих клеток осмотически активных веществ (ионов калия, хлора, малата) приводит к возрастанию тургорного давления, обратимому растяжению эластичных участков клеточных стенок и открыванию устьиц.

В регуляции участвуют цитокинины, способные усиливать поглощение K^+ замыкающими клетками устьиц и активировать H^+ , K^+ -АТФ – азу плазмалеммы. При закрывании устьиц содержание ионов калия, хлора, малата уменьшается. Этот процесс регулируется CO_2 и АБК.

Следовательно, работа устьичного аппарата связана с транспортом ионов через плазмалемму и тонопласт замыкающих клеток и изменениями в них тургорного давления.

Быстрые тургорные движения. Сейсмонастии – движения, индуцируемые сотрясением. Их механизм обеспечивается способностью клеток листовых подушечек, расположенных в сочленениях черешков с листовыми пластинками, быстро терять тургор под действием механических раздражителей,

что приводит к опусканию черешков и сворачиванию листьев. Проведение сигнала по растению осуществляется электрически. В ответ на раздражение генерируется ПД, который распространяется по черешку со скоростью 0,5–4,0 см/с, достигает клеток листовых подушечек и инициирует быструю потерю тургора в нижних клетках сочленений черешков и листьев.

Механические движения. Есть три типа таких движений: обратимые, возникающие при набухании и обезвоживании клеточных стенок, обладающих различной структурой, при изменении влажности воздуха; необратимые, связанные с реализацией высокого осмотического давления, возникающего внутри ткани; когезионные движения, происходящие из-за одностороннего напряжения тканей, возникающего при высыхании органов вследствие натяжения воды в неравномерно утолщенных клеточных стенках.

Лекция 22. Развитие растений

Основные этапы онтогенеза

Этапы онтогенеза (эмбрионный, ювенильный, репродуктивный, зрелости, старения) были рассмотрены в предыдущей лекции. В этой лекции ознакомимся с особенностями развития растений.

Морфологические, физиологические и метаболические особенности этапов онтогенеза

Развитие – это изменения в новообразовании элементов структуры организма, обусловленные онтогенезом, или жизненным циклом (В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева). Различают автономное и индуцированное развитие. Автономное развитие осуществляется под влиянием только внутренних возрастных и других изменений, возникающих в самом организме. Индуцированное развитие также требует индукции со стороны внешних факторов. Индукция развития – влияние внешних факторов или одной части растения на другую, приводящее к детерминации (определению) развития организма, органа или ткани. Индукторы – это факторы внешней среды, гормоны, метаболиты. В онтогенезе, как уже отмечалось, выделяют несколько этапов: эмбриональный, ювенильный, репродуктивный, старость.

Эмбриональный охватывает развитие зародыша (от зиготы до созревания семян включительно). Все процессы эмбриогенеза у покрытосеменных осуществляется в семяпочке (семязачатке), которая(ый) формируется на плодолистике. Из зиготы образуется зародыш, из семяпочки – семя, из завязи – плод. Формирующийся зародыш питается гетеротрофно. Существенную роль в развитии зародыша играет формирующийся эндосперм. Из него в зародыш поступает специфический набор питательных веществ: аминокислоты и другие азотистые вещества, углеводы, инозит, витамины и др.

Приток питательных веществ в развивающиеся семязачатки (семяпочки), а затем в созревающие семена и формирующиеся плоды определяется тем, что эти участки становятся доминирующими центрами. В них вырабатывается большое количество фитогормонов, прежде всего – ауксина, в результате чего аттрагирующее действие этих тканей возрастает. Накопление питательных веществ происходит в семенах. Запасные вещества могут откладываться и в семядолях, в этом случае эндосперм в зрелых семенах отсутствует (бобовые, пастушья сумка и др.).

У некоторых видов (перец, свекла и др.) запасаящая ткань формируется из нуцеллуса и в этом случае называется периспермом. Следовательно, питающие ткани как вне зародыша (эндосперм, перисперм), так и в самом зародыше (семядоли) синтезируют и запасают большое количество питательных высокополимерных веществ (белки, крахмал, запасные жиры). Они более компактны и инертны, чем мономеры, не создают значительного осмотического эффекта, что способствует уменьшению содержания воды в семенах.

На ювенильном этапе растения не способны к половому размножению. Этап можно разделить на две фазы: развитие проростка и накопление вегетативной массы. В течение первой фазы растение закрепляется на определенном экологическом участке среды обитания; во второй фазе создается вегетативная масса, достаточная для обеспечения трофическими факторами органов размножения и формирующихся семян и плодов, которые питаются гетеротрофно. Эта масса понадобится на следующем этапе развития. Растениям свойственны интенсивный метаболизм, быстрый рост и развитие вегетативных органов. Ткани и органы имеют относительно высокое содержание фитогормонов. Продолжительность этого периода у различных растений неодинакова: от нескольких недель до десятков лет.

Особенности периода: проростки по многим параметрам не похожи на взрослые растения (форма листьев; апикальная меристема побегов развита слабее, характер роста побегов); отсутствие цветения, в чем проявляется роль компетенции; ювенильное растение не обладает компетенцией к факторам, вызывающим закладку органов полового размножения, что, возможно, связано с отсутствием в органах-мишенях белков-рецепторов гормонов, участвующих в индукции генеративного развития; сравнительно высокая способность к корнеобразованию; длительность периода сильно различается у разных таксонов и жизненных форм.

Факторы, влияющие на ювенильность, у разных растений могут действовать по-разному. Главные из этих факторов: малая площадь листовой поверхности, что, вероятно, связано с недостаточностью углеводного питания; неблагоприятное соотношение молодых и старых листьев (удаление молодых листьев ускоряет образование цветка, старых – задерживает цветение; возможно, в молодых листья образуются ингибиторы цветения, идет конкуренция за ассимиляты); нечувствительность первых листьев к восприятию фотопериодического воздействия; тормозящее влияние корней на переход к зацветанию; нечувствительность меристем апексов побега к стимулам цветения.

Таким образом, причиной ювенильности одних растений может быть отсутствие компетентности молодых листьев к фотопериодическим или температурным воздействиям, других – невосприимчивость апикальных меристем к стимулам цветения. Ювенильным побегам характерно высокое содержание ауксина, образующегося в молодых листьях, и цитокининов, поступающих из корней. В ювенильных листьях могут присутствовать ингибиторы цветения. Ювенильное состояние зависит от определенных генов и поддерживается недостатком углеводного питания.

В репродуктивный период (этап зрелости и размножения) идет размножение, т. е. физиологический процесс воспроизведения себе подобных организмов, обеспечивающий непрерывность сосуществования вида и расселение его представителей в окружающем пространстве. Наиболее известны исследования этого процесса В. В. Полевым, Т. С. Саламатовой. У растений возникает компетентия (восприимчивость) к факторам, индуцирующим зацветание. Переход от вегетативного роста и развития к генеративному развитию связан с процессом инициации цветения.

Инициация цветения – образование апикальными меристемами цветочных зачатков и все предшествующие события, вызывающие их закладку. Она включает две фазы: индукцию цветения и эвокацию. Затем формируется цветок, идет опыление, оплодотворение, развиваются семена и плоды.

Индукция цветения – восприятие растением внешних и внутренних факторов, создающих условия для закладки цветочных зачатков. Эта фаза осуществляется под действием экологических факторов, например температуры (яровизация), чередования дня и ночи (фотопериодизм), либо эндогенных факторов, обусловленных возрастом растения (возрастная, или автономная индукция).

Яровизация – процесс, идущий в озимых растениях под действием в течение определенного времени низких положительных температур. Он способствует ускорению генеративного развития. Рецептором, воспринимающим действие пониженных температур, является точка роста. Под влиянием пониженных температур в клетках меристемы происходят следующие изменения: увеличивается количество РНК, активируются гидролитические ферменты, изоэлектрическая точка белков сдвигается в кислую сторону, усиливаются окислительные процессы. Считают, что в данном случае образуется специальное вещество верналин, который способен перемещаться по растению и вызывать заложение цветков. Некоторые ученые считают, что действие низких температур вызывает синтез гиббереллинов или дерепрессируют гены. Яровизация имеет адаптивное значение.

Фотопериодизм – реакция растений на суточный ритм освещения, т.е. на соотношение продолжительности дня и ночи (фотопериоды), выражающаяся в изменении процессов роста и развития. Понятия «фотопериод» и «фотопериодизм» были введены в 1920 г. У. Гарнером и Г. Аллардом. Продолжительность дня действует на зацветание различных растений неодина-

ково. В связи с этим различают короткодневные, длиннодневные, нейтральные, длинно-короткодневные, коротко-длиннодневные растения. Различают также качественную фотопериодическую реакцию у растений с облигатным фотопериодическим контролем и количественную фотопериодическую реакцию растений, которые быстрее зацветают под воздействием короткого или длинного дня, но в конечном итоге переходят к цветению и при неблагоприятной продолжительности дня. Некоторые растения способны «чувствовать» разницу в длине дня, измеряемую минутами. Рецептором в фотопериодической реакции является листовая пластинка. Она воспринимает длину дня и ночи, а изменения, в результате которых начинается закладка цветков, происходят в меристеме. На фотопериодическое воздействие отвечает ближайшая к листу точка роста.

Продолжительность дня и ночи листья воспринимают с помощью фитохрома. Впервые это было отмечено американскими исследователями Х. Бортвиком, М. Паркером и С. Хендриком. Они обнаружили, что вспышка красного света в конце темного периода у короткодневных растений индуцирует переход к зацветанию. Длинный красный свет, данный после красного, устраняет действие последнего. В явлениях фотопериодизма важная роль принадлежит фотосинтезу.

При исключении CO_2 из воздуха фотопериодическая реакция не происходит. Для осуществления фотопериодической реакции короткодневным и длиннодневным растениям требуется неодинаковое количество органического вещества (у длиннодневных эта потребность выше). Однако не интенсивность фотосинтеза является регулятором фотопериодического процесса, а фотопериод, который влияет на рост, развитие и потребности растения в ассимилятах.

Важна роль дыхания в этом процессе. Анаэробизм приводит к специфическому изменению фотопериодической реакции цветения. Важное влияние оказывают условия азотного и углеводного питания растений.

Фотопериодическое воздействие существенно влияет на динамику и накопление как углеводов, так и азотсодержащих соединений. При большой продолжительности дня увеличивается содержание углеводов как у длиннодневных (ДДР), так и у короткодневных (КДР) растений. В условиях короткого дня усиливается накопление белков, свободных аминокислот и органических кислот. КДР и ДДР различаются реакцией цветения на внесение азотных удобрений: ДДР, в отличие от КДР, быстрее зацветают при некотором дефиците азота в среде.

Эвокация – завершающая фаза инициации цветения, во время которой в апексе происходят процессы, приводящие к появлению цветочных зачатков. Если восприятие фотопериода можно назвать листовой фазой инициации цветения, то эвокация – это фаза стеблевого апекса. Ее сущность – переключение генетической программы развития вегетативных почек на генетическую программу, обеспечивающую закладку и формирование цветков.

Г. Клебс показал, что половое размножение всех групп растений зависит от условий питания. Он же высказал предположение о том, что цветению высших растений способствует высокое соотношение углеводов и азотистых соединений.

В 1937 г. М. Х. Чайлахян сформулировал гормональную теорию развития растений. Гипотетический стимул, вызывающий цветение, он назвал флоригеном. По данной теории, у нейтральных растений (НР) флориген образуется постоянно и не зависит от длины дня, у ДДР флориген образуется при длинном, у КДР – при коротком дне. В 1956 г. А. Ланг установил, что цветение ДДР ускоряется гиббереллином. В 1958 г. М. Х. Чайлахян выдвинул гипотезу о бикомпонентной природе флоригена, согласно которой стимул, вызывающий цветение, состоит из гиббереллинов и антезинов: гиббереллины обуславливают образование и рост цветочных стеблей, а антезины индуцируют заложение цветков. У НР и гиббереллин, и антезин синтезируются конститутивно, у ДДР антезин все время присутствует в растении, а уровень гиббереллина повышается при продолжительном дне, и происходит цветение; у КДР гиббереллина всегда достаточно для цветения, а антезин синтезируется только при коротком дне.

Природа антезина остается неизвестной. В 1985 г. Ж. Бернае, Ж.-М. Кине, Ю. Сакс выдвинули свою гипотезу индукции эвокации, согласно которой эвокация контролируется сложной системой, состоящей из нескольких факторов, каждый из которых запускает свою цепь процессов. Их взаимодействие приводит к закладке цветов. Факторы, регулирующие эвокацию, образуются в различных частях растения.

Старение – завершающий этап жизненного цикла клетки, органа, организма. Он связан со взаимосвязанными изменениями на молекулярном, клеточном, органном и организменном уровнях. Процесс старения развивается постепенно. На молекулярном уровне он в основном связан с изменением соотношения процессов синтеза биополимеров клетки и их распада (в пользу последнего). На клеточном уровне старение означает снижение фотосинтетической активности, вызванное спадом активности ферментов, кодируемых геномом хлоропластов, и связано с развитием репрессии генома и белоксинтезирующей системы хлоропластов после остановки роста листа.

Эти процессы находятся под контролем ядра. Также происходят активация гидролитических процессов, изменение гормонального баланса, уменьшение числа работающих рибосом, расщепление рРНК, уменьшение отношения РНК/белок, снижение интенсивности дыхания. Нарушается проницаемость в плазмалемме. На органном уровне идет конкуренция за свет, питание, регуляторы роста; старение характеризуется уменьшением скорости всех физиологических процессов, спадом жизнедеятельности корней, снижением скорости дальнего транспорта, ослаблением регуляции. Главная адаптивная функция старения органов – использование их компонентов. Старение целого растения базируется на старении составляющих его частей и их коррелятивной взаимозависимости.

М. Х. Чайлахян рассматривал старение как усиливающееся с возрастом ослабление жизнедеятельности организма, приводящее, в конечном итоге, к его естественному отмиранию. Старение выражается в прогрессирующем нарушении синтеза макромолекул и систем регуляции организма, накоплении токсических и инертных в химическом отношении продуктов, постепенном угасании отдельных физиологических функций (С. С. Медведев).

Старение вызывается нарушением соотношения фитогормонов. Увеличивается количество АБК и этилена, уменьшается количество ауксинов. АБК ускоряет распад хлорофилла, нуклеиновых кислот, усиливает деление клеток при образовании отделительного слоя в листовых черешках, цвето- и плодоножках, повышает активность пектиназы и целлюлазы, деятельность которых обеспечивает опадение органа. Этилен задерживает транспорт ИУК и увеличивает приток АБК в орган. Недостаток цитокининов усиливает старение.

Согласно гипотезе Г. Молиша, старение монокарпических растений сразу после плодоношения вызывается оттоком большей части питательных веществ к развивающимся плодам, а потому растение умирает от истощения. Имеются факты, противоречащие данной теории. Их продемонстрировали В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева.

Согласно гипотезе В. О. Казаряна, отток ассимилятов в формирующиеся плоды вызывает торможение роста корней, что ухудшает снабжение побегов минеральными веществами, водой, цитокининами. Нарушаются водный режим, поглощение солей, синтез белка, уменьшается количество поступающих цитокининов.

Это служит причиной старения растения.

В настоящее время известны еще две гипотезы: запрограммированной смерти клеток; старения как накопления случайных повреждений ядерного генома, белоксинтезирующей системы цитоплазмы и мембран («гипотеза катастрофы ошибок»).

Согласно первой гипотезе, старение запрограммировано в геноме, происходит в результате реализации генетической программы. Дифференцировка клеток приводит к выключению части аппарата трансляции, что индуцирует старение. Сторонники «гипотезы катастрофы ошибок» предполагают, что хроматин может повреждаться свободными радикалами; они же влияют и на проницаемость мембран. Это приводит к синтезу дефектных белков и токсичных продуктов, ускоряющих старение.

Состояние покоя у растений. Типы покоя и их значение для жизнедеятельности растений

Процесс обезвоживания приводит семена в состояние покоя, которое представляет собой пример анабиоза, когда жизненные процессы настолько замедленны, что отсутствуют видимые проявления жизни. Покой семян – это способ приспособливаться к неблагоприятным условиям среды. Продолжительность покоя у семян разных видов различна (от нескольких недель до не-

скольких лет). По физиологическим механизмам различают два типа покоя: вынужденный и физиологический.

Вынужденный характерен для семян, прорастание которых задерживается низкой температурой, недостатком воды, кислорода. Такой покой неглубок, и при устранении физических причин, мешающих прорастанию, семена трогаются в рост. Из этого вида покоя семена можно вывести, используя скарификацию.

Физиологический покой определяется внутренними факторами, как правило, недоразвитым зародышем. Так как при всех благоприятных факторах внешней среды семена, находящиеся в состоянии физиологического покоя, не прорастают, то используют термины «глубокий физиологический покой», или «органический покой». Состояние покоя регулируется балансом фитогормонов; торможение роста зародыша может быть связано с большим содержанием абсцизовой кислоты (ИУК) и индолилуксусной кислоты (ИУК), а выход из состояния покоя – со снижением концентраций этих гормонов с одновременным увеличением активности гиббереллинов и цитокининов.

Семена некоторых растений способны прорасти лишь на свету или после кратковременного освещения красным светом: красный свет воспринимается в клетках зародыша фитохромом, который переходит в активное состояние; в тканях зародыша возрастает содержание фитогормона, индуцирующего прорастание.

Такие семена называют светочувствительными (табак).

Из состояния физиологического покоя семена можно вывести, воздействуя на них низкими температурами. Этот прием называют стратификацией. В процессе ее у зародышей некоторых видов возрастает содержание гиббереллинов; в этих случаях стратификацию можно заменить обработкой семян гиббереллином.

Выведение семян из состояния глубокого физиологического покоя при действии специфических факторов среды (свет, температура) связано со сдвигом в соотношении фитогормонов: ингибиторов роста, цитокининов, гиббереллинов, ауксина. Необходимы снижение содержания ингибиторов роста и (или) повышение концентрации фитогормонов, стимулирующих рост. Для разных видов эти сдвиги в балансе фитогормонов не однозначны. Покой характерен любому органу растения и растению в целом.

МОДУЛЬ 4

Раздел 8. Физиологические основы устойчивости растений

Лекция 23. Устойчивость как приспособление растений к условиям существования

Общие понятия: стресс, адаптация, устойчивость

Растения часто подвергаются воздействию неблагоприятных факторов (стрессоров). В ответ на их действие организм переходит в состояние стресса. Термин «стресс» был выдвинут выдающимся канадским ученым Г. Селье в 1972 г. Данный термин быстро завоевал популярность в физиологии, поскольку объединил в себе виды воздействия на организм разнокачественных повреждающих факторов без количественной оценки эффекта, вызываемого каждым из стрессоров в отдельности.

Совокупность всех неспецифических изменений, возникающих в организме под влиянием стрессоров, включая перестройку защитных сил организма, называется стрессом. Его сила зависит от скорости, с которой возникают неблагоприятные ситуации. Есть три фазы стресса: 1) первичная стрессовая реакция; 2) адаптация; 3) истощение ресурсов надежности. Явления, наблюдаемые у растений при действии стрессоров, могут быть разделены на две категории:

повреждения, проявляющиеся на различных уровнях структурной и функциональной организации растения, например денатурация белков, нарушение метаболизма и торможение роста растяжением при обезвоживании клеток в условиях засухи или почвенного засоления;

ответные реакции, позволяющие растениям приспособиться к новым стрессовым условиям: они затрагивают экспрессию генов, метаболизм, физиологические функции и гомеостаз. Совокупность такого рода реакций называется акклиматизацией. В процессе нее растение приобретает устойчивость к действию стрессора. Акклиматизация происходит при жизни организма и не наследуется. Вместе с тем она осуществляется на основе тех возможностей, которые заложены в генотипе, т.е. в пределах нормы реакции. Пример данного явления – закаливание.

Как конститутивные, так и формирующиеся в ходе акклиматизации защитные механизмы могут быть разделены на две основные категории. Они представлены ниже.

1. Механизм избегания позволяет растению избежать действия стрессоров. Пример – поглощение воды, глубоко проникающей в грунт, корневой системой растений. У некоторых ксерофитов длина корневой системы достигает нескольких десятков метров, что позволяет растению использовать грунтовую воду и не испытывать недостатка влаги в условиях почвенной и

атмосферной засухи. Механизмы ионного гомеостатирования цитоплазмы у растений, устойчивых к почвенному засолению, связаны со способностью поддерживать концентрацию ионов натрия и хлора в цитоплазме при почвенном засолении, что позволяет этим растениям избежать токсического действия ионов на цитоплазматические биополимеры.

2. Механизмы резистентности (выносливости) позволяют растениям, не избегая действия стрессора, приспособиться к стрессовым условиям. Пример – биосинтез нескольких изоферментов, осуществляющих катализ одной и той же реакции; при этом каждая изоформа обладает необходимыми каталитическими свойствами в относительно узком диапазоне некоторого параметра окружающей среды, температуры. Весь набор изоферментов позволяет растению осуществлять реакцию в значительно более широком температурном диапазоне, чем в условиях работы изофермента, и, следовательно, приспосабливаться к изменяющимся температурным условиям.

Важную роль в устойчивости растений к действию стрессоров играют адаптация.

Адаптация – это генетически детерминированный процесс формирования защитных систем, обеспечивающих повышение устойчивости и протекания онтогенеза в ранее неблагоприятных для него условиях, приспособление организма к конкретным условиям существования.

Пример адаптации растений к засухе – морфологические особенности кактусов, имеющих мясистый стебель, листья-иголки, незначительное число устьиц, глубоко посаженных в ткань, толстую кутикулу и ряд других признаков, позволяющих кактусам осуществлять жизненный цикл в режиме экономии влаги и, таким образом, выживать в условиях засушливого климата. Адаптация проявляется на биохимическом уровне. Пример – биосинтез стероидных псевдоалкалоидов у некоторых пасленовых, в частности у картофеля, токсичных для травоядных животных и насекомых – фитофагов.

У индивидуума она достигается за счет физиологических механизмов (физиологическая адаптация), а у их популяции – за счет механизмов изменчивости и наследственности (генетическая адаптация). Адаптация включает все процессы (анатомические, морфологические, физиологические, поведенческие, популяционные и др.): от самой незначительной реакции организма на изменение условий, способствующей повышению устойчивости, до выживания конкретного вида. В отличие от акклиматизации, адаптация – наследственно закрепленный конститутивный признак, присутствующий в растении независимо от того, находится оно в стрессовых условиях или нет. Адаптация позволяет популяции организмов приспособиться к соответствующим условиям окружающей среды. Сохранение жизни на Земле является результатом непрерывной адаптации живых существ.

Устойчивость является конечным результатом адаптации. Устойчивостью (стресс – толерантностью, биологической устойчивостью) называется способность растения переносить действие неблагоприятных факторов и давать в этих условиях потомство.

Наиболее чувствительны к действию неблагоприятных факторов внешней среды молодые растения. В дальнейшем устойчивость растений повышается и продолжает увеличиваться до начала заложения цветков. В период формирования гамет, цветения, оплодотворения растения вновь очень чувствительны к стрессорам. Затем их устойчивость повышается (вплоть до созревания семян).

Действию стрессорных факторов подвергаются не только дикие, но и культурные растения. Любой экстремальный фактор оказывает отрицательное влияние на рост, накопление биомассы, в конечном итоге – на урожай.

Помимо устойчивости к факторам внешней среды растения должны обладать защитой от биотических факторов (прежде всего – от микроорганизмов-патогенов). Эволюция микроорганизмов с самого начала была направлена на постепенное разрушение биомассы, образуемой растениями, и включение высвобожденных элементов в начальные звенья круговорота. Фитопатогены могут вызывать физиологические и биохимические изменения.

Наиболее частыми нарушениями строения и структуры тканей, происходящими под влиянием патогена, являются: гипертрофия (увеличение размера и формы клеток), гиперплазия (увеличение количества клеток), гипоплазия (уменьшение количества и размера клеток), некроз, мацерация (размягчение и распад ткани). Вследствие повреждения корней и сосудистой системы нарушается поступление воды. Может происходить повышение или понижение скорости транспирации в результате изменения характера устьичных движений, а также сокращения числа устьиц.

Патогены проникают в растение через кутикулу и эпидермис (головневые грибы), через естественные проходы – устьица, чечевички (бактерии), поранения (в основном факультативные паразиты). Патогены существенно влияют на интенсивность дыхания, значительно снижают фотосинтетическую активность, нарушают азотный и углеводный обмены и т.д.

Устойчивость к болезни есть способность растения предотвращать, ограничивать или задерживать ее развитие.

Устойчивость может быть неспецифической (или видовой) и специфической (или сортовой).

Видовая устойчивость защищает растения от огромного количества сапрофитных микроорганизмов. Ее называют фитоиммунитетом, так как видовая устойчивость касается болезней, неинфекционных для данного вида растения. Благодаря видовой устойчивости каждый вид растений поражается лишь немногими возбудителями.

Специфическая устойчивость связана с паразитами, способными преодолеть видовую устойчивость растения и поражать растение в той или иной степени. Эта устойчивость важна для культурных растений, т.к. патогенные микроорганизмы могут снижать урожайность от 15 до 95 %.

Агрономическая устойчивость – способность организмов давать высокий урожай в неблагоприятных условиях.

Степень снижения урожая под влиянием стрессоров является показателем устойчивости растений к ним. Создание человеком высокопродуктивных

сортотипов часто приводит к снижению устойчивости. Причина в том, что чем больше энергетических ресурсов растение тратит на поддержание высокой устойчивости, тем меньше их остается для формирования урожая, и наоборот. Многие культурные растения не могут сами развиваться и полностью зависят от человека, создающего для них благоприятные условия. В результате хозяйственной деятельности человека появляются новые неблагоприятные факторы, против действия которых растения еще не выработали защитное приспособление в процессе эволюции.

Устойчивость к неблагоприятным факторам среды определяет характер распределения различных видов растений по климатическим зонам. Большинство сельскохозяйственных культурных растений вынуждены постоянно находиться в стрессовых условиях, поэтому обычно реализуется только 20 % их генетического потенциала.

Типы ответных реакций растений на действие неблагоприятных факторов

Выбор растением способа адаптации зависит от многих факторов. Однако ключевым фактором является время, предоставленное организму для ответа. Чем больше времени предоставляется для ответа, тем больше выбор возможных стратегий. При внезапном действии экстремального фактора ответ должен последовать незамедлительно. В соответствии с этим различают три главные стратегии адаптации: эволюционные, онтогенетические, срочные.

Эволюционная (филогенетическая) адаптация – это адаптация, возникающая в ходе эволюционного процесса на основе генетических мутаций отбора и передающаяся по наследству. Результатом таких адаптаций является оптимальная подгонка организма к среде обитания. Системы выживания, сформированные в ходе эволюции, наиболее надежны. Пример – анатомо-морфологические особенности растений, обитающих в самых засушливых пустынях земного шара, а также на засоленных территориях. Однако изменения условий среды, как правило, являются слишком быстрыми для возникновения эволюционных приспособлений. В этих случаях растения используют не постоянные, а индуцируемые стрессором защитные механизмы, формирование которых генетически предопределено. В основе образования таких защитных систем лежит изменение дифференциальной экспрессии генов.

Онтогенетическая (фенотипическая) адаптация обеспечивает выживание данного индивида. Она не связана с генетическими мутациями и не передается по наследству. Формирование такого рода приспособлений требует сравнительно много времени, поэтому такую адаптацию называют долговременной. Пример – переход некоторых C_3 -растений на САМ-тип фотосинтеза, позволяющий экономить воду, в ответ на засоление и жесткий водный дефицит.

Срочная адаптация основана на образовании и функционировании шоковых систем и происходит при быстрых и интенсивных изменениях условий

обитания. Обеспечивает лишь кратковременное выживание при повреждающем действии фактора; создаются условия для формирования более надежных долговременных механизмов адаптации. К шоковым защитным системам относятся система теплового шока (в ответ на быстрое повышение температуры), SOS – система (сигнал для ее запуска – повреждение ДНК).

Активная адаптация – формирование защитных механизмов. При этом обязательным условием выживания является индукция синтеза ферментов с новыми свойствами или новых белков, обеспечивающих защиту клетки и протекание метаболизма в ранее непригодных для жизни условиях. Результат – расширение экологических границ жизни растения.

Пассивная адаптация – «уход» от повреждающего действия стрессора или приспособление к нему. Этот тип адаптации имеет огромное значение для растений, т. к. они не могут убежать или спрятаться от вредного воздействия фактора. Это переход в состояние покоя, способность растений изолировать «агрессивные» соединения (такие, как тяжелые металлы в стареющих органах, тканях или вакуолях), т. е. сосуществовать с ними.

Короткий онтогенез растений – эфемеров позволяет им сформировать семена до наступления неблагоприятных условий. Однако для выживания в экстремальных условиях растительные организмы часто используют как активные, так и пассивные пути адаптации. Например, в ответ на повышение температуры воздуха растение «уходит» от действующего фактора, понижая температуру тканей за счет транспирации, и одновременно активно защищает клеточный метаболизм от высокой температуры, синтезируя белки теплового шока.

Надежность растительного организма определяется его способностью не допускать или ликвидировать отказы на разных уровнях: молекулярном, субклеточном, клеточном, тканевом, органном, организменном и популяционном. Для предотвращения отказов используются системы стабилизации: принцип избыточности, принцип гетерогенности равнозначных компонентов, механизмы гомеостаза. Для ликвидации возникших отказов служат системы репарации. На каждом уровне биологической организации действуют свои механизмы. Например, на молекулярном уровне принцип избыточности находит свое выражение в полиплоидии, на организменном – в образовании большого количества гамет и семян. Примером восстановительной активности на молекулярном уровне служит энзиматическая репарация поврежденной ДНК, на организменном – пробуждение пазушных почек при повреждении апикальной меристемы, регенерация и т. д.

Защита растений от неблагоприятных факторов среды обеспечивается особенностями анатомического строения (кутикула, корка, механические ткани и т. д.), специальными органами защиты (жгучие волоски, колючки), двигательными и физиологическими реакциями, выработкой защитных веществ (смолы, фитоалексины, фитонциды, токсины, защитные белки). Надежность организма проявляется в эффективности его защитных приспособлений, устойчивости к действию неблагоприятных факторов внешней среды.

**Лекция 24. Действие факторов среды
на растительный организм****Характеристика факторов внешней среды**

Факторы, вызывающие стресс у растения, подразделяются на три группы: физические, химические, биологические. Действие одного и того же фактора при одном и том же уровне интенсивности может вызывать или не вызывать стресс у растения, в зависимости от его сопротивляемости.

**Механизмы устойчивости и пути адаптации растений
к различным неблагоприятным факторам**

Различные структурные и физиологические механизмы позволяют растениям противостоять особо неблагоприятным воздействиям. Рассмотрим некоторые из них.

От водного дефицита и неблагоприятных температурных воздействий растения защищаются тремя главными способами: с помощью механизмов, которые дают возможность избежать неблагоприятных воздействий; с помощью специальных структурных приспособлений; благодаря физиологическим свойствам, позволяющим преодолеть пагубное влияние окружающей среды.

Избежать воздействия неблагоприятных условий растения могут, проводя это время в форме устойчивых семян или в состоянии покоя. Например, у древесных пород зимуют только более устойчивые к холоду ветви и покрытые жесткими чешуевидными листьями почки. Таким же способом растения могут противостоять и водному дефициту. У растений пустынь листья сохраняются только в период дождей.

Структурные приспособления растений в экстремальных условиях имеются либо на протяжении всей их жизни, либо на каком-то определенном этапе развития. Назначение приспособлений – ограничить потери воды: листья покрыты толстым слоем воскообразной кутикулы (водонепроницаемый барьер); густое опушение и погруженные устьица (удержание у поверхности листа слоя влажного воздуха); снижение интенсивности транспирации. У некоторых растительных организмов листья очень мелкие или их совсем нет, у них ограничена площадь поверхности, с которой идет испарение. У других организмов – сочные листья и стебли, в них сохраняются запасы воды. Растениям характерна карликовость, что ослабляет иссушающее и охлаждающее действие ветра.

Физиологическое приспособление позволяют растениям выживать в условиях жары, холода, засухи. Многим суккулентам характерен универсальный механизм фотосинтеза, сводящий к минимуму потери воды (САМ-метаболизм). Эти растения открывают устьица и фиксируют углекислый газ в темноте, когда транспирация минимальна, и закрывают устьица на свету. Эффективный фотосинтез протекает у них при закрытых устьицах благодаря

челночному механизму, перекачивающему углекислый газ от C_4 - к C_3 -системе.

Этот механизм важен для выживания растений в пустыне. Сходные приспособления позволяют организмам избежать повреждений под действием мороза. Повышение концентрации растворенных веществ уменьшает вероятность образования крупных кристаллов льда. В клеточных мембранах происходят изменения, делающие эти мембраны менее хрупкими при низких температурах.

Увеличивается синтез белков, обладающих особо высокой способностью к гидратации. Гидратационная вода практически не замерзает, она удерживается вблизи молекул белка силами, которые предотвращают образование кристаллов льда. Растения, переносящие засуху, – засухоустойчивые растения.

Растения – мезофиты менее устойчивы к засухе; они, в отличие от ксерофитов, формируют защитные механизмы лишь в ответ на засуху (онтогенетическая адаптация). Механизмы устойчивости таковы: сокращение потерь воды за счет торможения дальнейшего увеличения листовой поверхности, ингибирование растяжения, деления клеток; сокращение потерь воды за счет уменьшения площади листовой поверхности (сбрасывание листьев, при этом большая роль принадлежит ауксину и этилену; свертывание листьев в трубочку, причем испаряющая поверхность оказывается внутри); стимуляция роста корневой системы; уменьшение потерь воды за счет закрытия устьиц; аккумуляция низкомолекулярных соединений; повышение эффективности использования воды (переключение C_3 -типа фотосинтеза на САМ-тип). В растениях много генов, регулируемых водным дефицитом и кодирующих различные белки; интенсивность определяется спецификой тканей, органов, зависит от стадии онтогенеза и характера стресса.

Растения, способные переносить высокую температуру, называют жароустойчивыми. У них помимо механизмов, характерных для ксерофитов, включается механизм образования белков теплового шока.

По реакции на низкие температуры различают морозо- и холодоустойчивые растения. Зимостойкость – это способность растений переносить целый комплекс неблагоприятных условий, связанных с перезимовкой. В этот период наблюдаются следующие явления: выпревание, вымокание, ледяная корка, выпирание, зимняя засуха, зимне-весенние «ожоги».

Солеустойчивость (галотолерантность) – это устойчивость растений к повышенной концентрации солей в почве или воде. Галофиты – растения, имеющие специальные приспособления для нормального завершения онтогенеза в условиях высокой засоленности. Галофиты делят на три группы: настоящие, солевывделяющие, солепроницаемые.

Настоящие галофиты – наиболее солеустойчивые растения. Они накапливают в вакуолях значительное количество солей. Для растений характерна мясистость листьев.

Солевывделяющие галофиты (криногалофиты), поглощая соли, не накапливают их внутри тканей, а выводят из клеток с помощью секреторных же-

лезок, расположенных на листьях. Этот процесс осуществляется с помощью ионных насосов и сопровождается транспортом большого объема воды.

Соленепроницаемые галофиты (гликогалофиты) растут на менее засоленных почвах. Их высокое осмотическое давление поддерживается за счет продуктов фотосинтеза.

Поскольку галофитам трудно получать воду из засоленной почвы, то у них выработались некоторые признаки ксерофитов (толстая кутикула, погруженные устьица, водозапасающие ткани в листьях).

Механизмы солеустойчивости галофитов таковы: 1) поддержание ионного гомеостаза; 2) снижение водного потенциала клеток; 3) адаптация к условиям засоления.

Влияние засоления. Изменение соотношения ионов в клетке в пользу натрия сопровождается инактивацией ферментов и нарушением метаболизма. Наблюдаются нарушение ионного гомеостаза, замедление синтеза и ускорение распада белков, изменяются работа трансаминаз и протекание реакций переаминирования. В клетках идет накопление токсических веществ. Торможение роста заключается в снижении интенсивности фотосинтеза из-за дефицита двуокси углерода, вызванного закрыванием устьиц. Изменяется структура органоидов. Увеличивается проницаемость мембран. Клетки в зоне корневых волосков повреждаются, что приводит к плохому поглощению элементов минерального питания. Длительное засоление приводит к снижению интенсивности дыхания. Избыток солей может вызвать асинхронные деления меристематических клеток, в результате наступает ксероморфность.

На затопляемых территориях растут гидрофиты. Их особенность – наличие аэренхимы, не развивается механическая ткань, нет кутина и суберина. Восходящий ток воды поддерживается за счет корневого давления и выделения воды через гидатоды. У некоторых есть дыхательные корни.

Таким образом, на протяжении жизни каждого растительного организма в процессе эволюции вырабатывались определенные потребности в условиях существования. Вместе с тем каждый организм обладает способностью к адаптации, т. е. приспособлению к меняющимся условиям среды. И то, и другое свойство организма заложено в его генетической основе. Чем больше способность организма изменять метаболизм в соответствии с меняющимися условиями среды, тем больше его норма реакции и способность к адаптации. Приспособление растений к внешним факторам повышает их жизнеспособность и устойчивость к экстремальным факторам среды. Способность переносить неблагоприятные факторы у разных растений неодинакова. Одни растения более устойчивы к низким температурам, другие – к высоким, одни переносят засуху, другие – засоление и т. д.

Поэтому выделяют различные виды устойчивости: морозоустойчивость, холодоустойчивость, солеустойчивость, газоустойчивость и т. д.

Приспосабливаемость растений возникла исторически и изменялась в процессе индивидуального развития. Устойчивость обеспечивается особенностями анатомического строения, специальными органами защиты, двига-

тельными и физиологическими реакциями, выработкой защитных веществ. Устойчивость растения к одному из факторов может привести к его устойчивости к другому (например, жароустойчивость и засухоустойчивость).

При медленном развитии неблагоприятных условий организм легче приспосабливается к ним. Это может привести к повышению устойчивости организма, т. е. его закаливанию.

Закаливание растений

Устойчивость растений к низким температурам можно повысить с помощью закаливания.

Закаливание – процесс повышения устойчивости растительных организмов к низким температурам.

Оно подготавливает весь комплекс защитных средств растения, ускоряется при остановке ростовых процессов и осуществляется при постепенном снижении температуры, а для ряда организмов – и при укороченном фотопериоде. В нашей стране теория закаливания разработана И. И. Тумановым в 1950 г. Согласно ей растения проходят три этапа подготовки: переход в состояние покоя; первая фаза закаливания; вторая фаза закаливания. Переход в состояние покоя без последующих этапов ненамного повышает устойчивость растений к низким температурам.

Процесс перехода в состояние покоя сопровождается смещением баланса фитогормонов в сторону уменьшения содержания ауксинов и гиббереллинов и увеличения содержания абсцизовой кислоты. Обработка ингибиторами роста повышает устойчивость организма к низким температурам, а обработка стимуляторами роста приводит к понижению устойчивости этих растений. У древесных растений покой наступает в начале осени и в первую фазу закаливания лишь углубляется, у травянистых растений переход в состояние покоя сопровождает первую фазу закаливания.

Первую фазу закаливания озимые злаки проходят на свету при низких положительных температурах за 6–9 дней, древесные – за 30 дней. Останавливается рост, в клетках накапливаются соединения, выполняющие защитную функцию (сахара, растворимые белки и т. д.), в мембранах возрастает содержание ненасыщенных жирных кислот, снижается точка замерзания цитоплазмы, уменьшается объем внутриклеточной воды, что тормозит образование внутриклеточного льда.

Вторая фаза закаливания отмечается постепенным понижением температуры. Эта фаза происходит при температурах ненамного ниже нуля градусов и не зависит от света. Постепенно уменьшается объем связанной воды. Изменение структуры белковых молекул приводит к тому, что они лучше связывают воду. Увеличение объема связанной воды снижает возможность образования льда. Увеличивается проницаемость плазмалеммы. В межклетниках образуется лед, что предотвращает образование льда в протопласте.

Начинают функционировать механизмы защиты от обезвоживания, подготовленные в течение первой фазы закаливания.

Однако не все растения способны к закаливанию.

Радиостойчивость растений и ее механизмы

Различают прямое и косвенное действие радиации на организм. Прямое состоит в радиационно-химических превращениях молекул в месте поглощения энергии излучения. Прямое попадание в молекулу приводит ее в возбужденное, или ионизированное, состояние. Поражающее действие связано с ионизацией молекулы.

Косвенное действие состоит в повреждении молекул, мембран органоидов, клеток, вызываемом продуктами радиолиза воды, количество которых в клетке при облучении очень велико. Заряженная частица излучения, взаимодействуя с молекулой воды, вызывает ее ионизацию. Ионы воды способны образовывать химически активные свободные радикалы и пероксиды. В присутствии растворенного в воде кислорода возникают также мощный окислитель и новые пероксиды. Эти окислители могут повредить многие биологически важные молекулы: нуклеиновые кислоты, белки-ферменты, липиды мембран и т. д. Кроме того, при взаимодействии радикалов воды с органическими веществами в присутствии кислорода образуются органические пероксиды, что способствует повреждению молекул и структур клетки.

При понижении концентрации кислорода в среде (ткани) эффект лучевого поражения уменьшается, и наоборот. Этот «кислородный эффект» проявляется на всех уровнях организации. Прямое действие радиации на молекулы объясняют теория «мишеней или попаданий» и вероятностная гипотеза.

Согласно первой теории, попадание ионизирующей частицы в мишень молекулы или структуры клетки приводит к ее повреждению, генетическим изменениям и гибели. С увеличением дозы радиации количество повреждений увеличивается.

Согласно вероятностной гипотезе, взаимодействие излучения с мишенью происходит по принципу случайности. Дальнейшие изменения связаны с непрямым действием излучений. Наиболее чувствительны к радиации активные меристемы.

Механизмы радиостойчивости: системы восстановления ДНК, способствующие уменьшению числа повреждений, изменений в хромосомах; вещества-радиопротекторы (сульфгидрильные соединения, например глутатион, цистеин и др.; восстановители, например аскорбиновая кислота, ионы металлов, ряд ферментов и кофакторов, ингибиторы метаболизма, активаторы и ингибиторы роста и т.д.); функция этих веществ – гашение свободных радикалов, возникающих при облучении; восстановление на уровне организма (неоднородность делящихся клеток меристем, асинхронность делений в

меристемах, существование в апикальных меристемах фонда клеток покоящегося центра, в покоящихся меристемах – спящих почек).

Лекция 25. Общие механизмы устойчивости и характеристика адаптационного процесса

Общие принципы адаптивных реакций растений на экологический стресс

Стресс – общая неспецифическая адаптационная реакция организма на действие любых неблагоприятных факторов.

На клеточном уровне к первичным неспецифическим процессам, происходящим при нарастающем действии стрессора, относятся: повышение проницаемости мембран, деполяризация мембранного потенциала плазмалеммы; вход ионов кальция в цитоплазму из клеточных стенок и внутриклеточных компартментов (вакуоли, ЭПС, митохондрии); сдвиг pH цитоплазмы в кислую сторону; активация сборки актиновых микрофиламентов и сетей цитоскелета, в результате чего возрастает вязкость и светорассеивание цитоплазмы; усиление поглощения кислорода, ускоренная трата АТФ, развитие свободнорадикальных реакций; ускорение гидролитических процессов; активация и синтез стрессовых белков; усиление активности водородной помпы в плазмалемме (возможно, и в тонопласте), что препятствует неблагоприятным сдвигам ионного гомеостаза; увеличение синтеза этилена и абсцизовой кислоты, торможение деления и роста, поглотительной активности клетки и других физиологических и метаболических процессов.

Эти стрессовые реакции наблюдаются при действии любого стрессора. Они направлены на защиту внутриклеточных структур и устранение неблагоприятных изменений в клетках. Данные явления взаимосвязаны и развиваются как каскадные реакции. Стрессоры оказывают и специфическое влияние: синтез стрессовых белков и увеличение содержания пролина и т. д.

Охарактеризуем механизмы адаптации на организменном уровне. Чем выше уровень биологической организации, тем большее число механизмов одновременно участвует в адаптации растений к стрессовым воздействиям. На этом уровне сохраняются все механизмы адаптации, свойственные клетке, но они дополняются новыми, отражающими взаимодействие органов растений.

При конкурентных отношениях между органами за физиологически активные вещества и трофические факторы отношения построены на силе аттрагирующего действия. Этот механизм позволяет растениям в экстремальных условиях сформировать такой минимум генеративных органов (аттрагирующих центров), которые они в состоянии обеспечить необходимыми веществами для нормального созревания.

В процессе замены поврежденных или утраченных органов путем регенерации и роста пазушных почек участвуют межклеточные системы регуляции (гормональная, трофическая, электрофизиологическая).

В растениях резко возрастает выработка этилена и абсцизовой кислоты, что снижает обмен веществ, тормозит ростовые процессы, способствует старению и опадению органов, переходу растения в состояние покоя. Одновременно в тканях снижается содержание ауксина, цитокинина, гиббереллинов. Ведущая роль принадлежит фитогормонам, тормозящим функциональную активность растений.

При адаптации на популяционном уровне в условиях длительного стресса гибнут те индивидуумы, генетическая норма реакции которых на данный экстремальный фактор ограничена узкими пределами. Эти растения устраняются из популяции, а семенное потомство образуют лишь генетически более устойчивые растения. Общий уровень устойчивости в популяции возрастает. В стрессовую реакцию включается дополнительный фактор – отбор, приводящий к появлению более приспособленных организмов и новых видов (генетическая адаптация). Предпосылка – внутривидовая вариативность уровня устойчивости к тому или иному фактору или группе факторов.

Изменение экспрессии генов. Синтез стрессовых, мембранных, структурных белков. Перестройка мембранных систем

Почти все растения отвечают на действие любого стрессора активацией разных групп генов и синтезом кодируемых ими защитных белков. Система «белки теплового шока» (БТШ) – древняя и консервативная. Выделяют пять групп белков теплового шока. Главные отличия системы белков теплового шока растений – это многокомпонентность и сложность состава низкомолекулярных полипептидов. Именно с функционированием низкомолекулярных БТШ связывают защитную роль данной системы в растениях.

Эти белки локализируются в ядре, цитозоле, клеточных органеллах. Повышение температуры инициирует полное перепрограммирование метаболизма, которое обеспечивает поддержание жизни растения в экстремальных условиях. Гены БТШ лишены интронов, мРНК имеет полупериод жизни 2 ч, а белки – около 20 ч, в течение которого клетка сохраняет терморезистентность. Некоторые из этих белков предсуществуют в цитоплазме и в условиях стресса активируются фрагментированием.

В ядре и ядрышке БТШ образуют гранулы, связывая матрицы хроматина, необходимые для нормального метаболизма. После прекращения стрессового состояния эти матрицы вновь освобождаются и начинают функционировать. Один из белков стабилизирует плазмалемму, проницаемость которой в условиях стресса возрастает. Кроме синтеза шоковых белков, показывающего, что в геноме записана специальная программа, связанная с пережи-

ванием стресса, в клетках возрастает содержание углеводов, пролина, которые участвуют в защитных реакциях, стабилизируя цитоплазму.

При водном дефиците и засолении у ряда растений содержание пролина в цитоплазме возрастает в 100 раз и более. Благодаря своим гидрофильным группам пролин может образовывать агрегаты, функционирующие как гидрофильные коллоиды. Этим объясняется высокая растворимость пролина, а также его способность связываться с поверхностными гидрофильными остатками белков. Необычный характер взаимодействия агрегатов пролина с белками повышает растворимость белков и защищает их от денатурации. Накопление пролина как осмотически активного органического вещества благоприятствует удержанию воды в клетке.

Действие засухи приводит к уменьшению в клетках свободной воды, что изменяет гидратные оболочки белков цитоплазмы и сказывается на функционировании белков-ферментов. Снижается активность ферментов синтеза и активируются гидролитические процессы, что ведет к увеличению числа низкомолекулярных белков. В клетках в результате гидролиза полисахаридов накапливаются растворимые углеводы, отток которых из листьев замедлен. Снижается количество РНК (вследствие торможения ее синтеза и активации рибонуклеаз). Идет распад полирибосомных комплексов. Длительная засуха может привести к изменению структуры ДНК. В растениях существует огромное количество генов, регулируемых водным дефицитом и кодирующих различные белки: регуляторные, защитные (шапероны), ферменты.

У растений существует мощная система защиты от воздействия тяжелых металлов (ТМ). В ответ на недостаток кислорода растения изменяют дифференциальную экспрессию генов (как и при тепловом шоке и водном дефиците). Наблюдается резкое торможение синтеза белков аэробного метаболизма; синтезируются новые белки.

При низкой температуре проявляется «чистый» эффект пониженных температур на обмен веществ растений. Основная причина ускорения распада белков и накопления в тканях растворимых форм азота – нарушение функциональной активности мембран из-за перехода насыщенных жирных кислот, входящих в их состав, из жидкокристаллического состояния в состояние геля. В мембранах холодоустойчивых растений много ненасыщенных жирных кислот, что позволяет поддерживать мембраны в жидком состоянии.

Переход насыщенных жирных кислот в ненасыщенное жидкокристаллическое состояние происходит с помощью специальных десатурирующих ферментов – десатураз. Ненасыщенные жирные кислоты увеличивают текучесть мембран.

Усиливается синтез стрессорных белков холодового ответа. Идентифицировано несколько генов и кодируемых ими белков холодового ответа, их обозначают как COR-белки (cold-responsive proteins). Морозоустойчивость является признаком, контролируемым многими генами. Синтезируются мо-

лекулярные шапероны, предотвращающие денатурацию белков при низких температурах.

Выживание растения в условиях избыточного засоления зависит не от солетолерантности самих белков, а от их микроокружения, способности клеток поддерживать ионный гомеостаз. Совместимые осмолиты (сахара, сахароспирты, свободные аминокислоты и др.) понижают водный потенциал, защищают мембраны, ферменты, структурные и регуляторные макромолекулы. Повышение концентрации этих веществ идет за счет активации работы генов, контролирующих ферменты синтеза осмолитов, и ингибирования экспрессии других генов, ответственных за их разрушение.

Активация генов, кодирующих регуляторные белки, ферменты синтеза гормонов и т. д. Синтез стрессовых, мембранных, структурных белков, синтез протекторных соединений – это биохимическая адаптация.

Биохимическая адаптация

Виды биохимической адаптации к некоторым экстремальным факторам внешней среды были рассмотрены выше. Рассмотрим биохимические механизмы адаптации растений к засухе. Они предотвращают обезвоживание клетки, обеспечивают детоксикацию продуктов распада, способствуют восстановлению нарушенных структур цитоплазмы. Высокая водоудерживающая способность цитоплазмы сохраняется при накоплении низкомолекулярных гидрофильных белков, связывающих значительный объем воды в виде гидратных оболочек. Этому способствует взаимодействие белков с пролином, концентрация которого в условиях стресса резко возрастает, а также увеличение числа моносахаров в цитоплазме.

Приспособление, уменьшающее потерю воды, является особым типом метаболизма – САМ-метаболизмом. Детоксикация избытка аммиака осуществляется с участием органических кислот, количество которых возрастает в тканях при водном дефиците. Защита ДНК – частичное выведение молекулы из активного состояния с помощью ядерных белков и с участием стрессовых белков.

Существенная перестройка происходит при водном дефиците в гормональной системе растений. Уменьшается содержание гормонов – активаторов роста (ауксин, цитокинин, гиббереллины, стимуляторы роста фенольной природы), и возрастает уровень абсцизовой кислоты и этилена. Для поддержания роста необходима вода; в то же время от быстроты остановки ростовых процессов часто зависит выживание растения. На ранних этапах засухи главная роль принадлежит стремительному повышению содержания ингибиторов роста (даже в нормальных условиях срочные реакции закрывания устьиц осуществляются за счет ускоренного увеличения АБК).

Содержание гормона в среднем увеличивается на порядок со скоростью 0,15 мкг/г сырой массы в час. Закрывание устьиц уменьшает потери воды. Абсцизовая кислота способствует запасанию гидратной воды в клетке, т. к. активирует синтез пролина, а он увеличивает оводненность белков в

клетке в экстремальных условиях, тормозит синтез РНК и белков, накапливаясь в корнях, задерживает синтез цитокинина. Следовательно, АБК уменьшает потери воды через устьица, способствует запасанию гидратной воды белками и переводит обмен веществ клетки в режим «покоя».

В условиях стресса отмечается значительное выделение этилена. Увеличивается активность синтетазы, катализирующей ключевую реакцию биосинтеза этилена. Обнаруживается накопление ингибиторов роста фенольной природы (хлорогеновая кислота, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты). Накопление ингибиторов наблюдается у мезофитов.

Снижение содержания фитогормонов-активаторов (ИУК) происходит вслед за остановкой роста. Уменьшение содержания ауксина может быть связано с низким содержанием триптофана (предшественника ауксина) и подавлением транспорта ИУК по растению.

Пути повышения устойчивости растений

Отбор и разведение организмов, устойчивых к экстремальным факторам. Селекция. Скрещивание существующих растений не исчерпывает всех потенциальных возможностей получения новых сортов геномов.

При генной инженерии необходимо найти комплекс генов, отвечающих за ту или иную устойчивость. Для экспериментов по трансформации растительной клетки наиболее подходящий объект – протопласты. Получены протопласты из листьев картофеля, из которых в результате регенерации сначала вновь образуются клетки, а затем каллусы и целые растения; проводится отбор вариантов, наиболее устойчивых к неблагоприятным воздействиям и болезням.

В этих условиях клетка производит избыточное количество нормального метаболита. Если эту клетку выращивать в культуре, она даст начало растению, продуцирующему желаемый метаболит в достаточных количествах.

Засухоустойчивость сельскохозяйственных растений можно повысить в результате предпосевного закаливания. Адаптация к обезвоживанию происходит в семенах, повторно высушиваемых перед посевом (после однократного намачивания). Растениям, выращенным из таких семян, характерны морфологические ксероморфные признаки, коррелирующие с их большей засухоустойчивостью.

Холодостойкость растений можно усилить также предпосевным закаливанием семян. В течение нескольких суток наклюнувшиеся семена выдерживают при чередующихся условиях низких положительных и более высоких температур. Так же можно закалять рассаду. Устойчивость можно повысить путем замачивания семян в 0,25%-ных растворах микроэлементов или нитрата аммония.

Внесение в почву микроэлементов улучшает ионный обмен растений в условиях засоления. Солеустойчивость повышается благодаря применению

предпосевного закаливания, заключающегося в обработке семян раствором NaCl с последующим промыванием водой (при хлоридном засолении).

Одним из способов, повышающих устойчивость растений к недостатку кислорода, является их обработка и замачивание семян в растворах хлорхлорида. Повысить устойчивость можно путем предпосевного замачивания семян в 0,001–0,0001%-ном растворе никотиновой кислоты. Другой способ – подкормка растений нитратами. Газоустойчивость повышается при оптимизации минерального питания и закалке семенного материала.

Растения обладают способностью противостоять действию неблагоприятных факторов среды. Защита от них обеспечивается на клеточном, органном (анатомические приспособления, специальные органы защиты, физиологические реакции, выработка защитных веществ), организменном и популяционном уровнях.

Лекция 26. Физиология растений – теоретическая основа их продуктивности

Физиология растений – теоретическая основа растениеводства и новых отраслей биотехнологии

Перспективы развития физиологии растений в области биотехнологии были проанализированы на последних съездах Общества физиологов растений России (1999, Москва; 2003, Пенза; 2007, Сыктывкар).

Развитие биотехнологии растений осветил Г. А. Романов (Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева, РАН). Он отметил, что генетически модифицированные растения (ГМ-растения) появились в середине 80-х годов 20 века. Уже к началу 21 века были созданы ГМ-растения для десятков разнообразных растительных видов, в том числе – для большинства культурных растений (соя, кукуруза, рис, картофель, папайя). С учетом разнообразия встроенных генов общее количество полученных генотипов ГМ-растений столь огромно, что не поддается исчислению.

В связи с тем, что техника генетической трансформации все время совершенствуется, производство ГМ-растений будет лавинообразно нарастать. Уже сейчас они занимают десятки миллионов гектаров, что превышает среднюю площадь европейских стран. Продукты питания, полученные из ГМ-растений, активно вытесняют своих «натуральных конкурентов». Особенно это касается продуктов из сои, кукурузы, томатов, рапса и картофеля.

ГМ-растения оказались незаменимым инструментом для научных исследований в области физиологии, молекулярной биологии, биохимии и генетики растений. Однако, признавая большие перспективы применения ГМ-растений, ученые должны отдавать себе отчет, что далеко не все изменения метаболизма трансформированных растений после вмешательства в их геном могут быть точно предсказаны.

Наоборот, именно благодаря генетическим трансформантам, в том числе растительным, были открыты такие фундаментальные закономерности работы генетического аппарата, как эффекты «замолкания» генов, подавления генной экспрессии в присутствии антисмысловой РНК и др. Все это требует продолжения детального и разностороннего изучения процессов, происходящих в трансгенных растениях в результате генетической трансформации, особенно в отношении культурных растений, предназначенных для производства продуктов питания. Разнообразные примеры таких изменений были приведены в настоящем сообщении. В докладе было также уделено внимание проблемам стабильности экспрессии генетического материала в клетках в череде поколений, а также проблемам экологической биобезопасности трансгенных растений.

Биофарминг – одно из новых перспективных направлений биотехнологии растений. Характеристику этому направлению дал Р. К. Салаяев (СИФИБР СО РАН) в своем докладе на V съезде Общества физиологов растений России, проходившем в Пензе в 2003 г. Основные положения его доклада таковы.

В последние годы одним из актуальных направлений современной биоинженерии стала разработка съедобных вакцин. Предпосылкой явилось функционирование ряда слизистых оболочек, в том числе и желудочно-кишечного тракта, как части иммунной системы организма. Это предполагает возможность перорального применения пищевых продуктов, содержащих антигенные белки к соответствующим инфекциям.

Для решения этих проблем из патогенных организмов (бактерии, вирусы) выделяют гены, кодирующие синтез антигенных белков, и переносят их под подходящим промотором в геном растительного организма. При условии интеграции целевых генов и их достаточно активной экспрессии в вегетативных частях и плодах синтезируется определенное количество антигенов.

Если титр антигенов достаточен, при пероральном введении в организм развивается иммунный ответ компетентных клеток (В- и Т-лимфоцитов), который запускает синтез антиген-специфичных антител против конкретного заболевания.

Примерами являются создаваемые вакцины против холерного токсина, вируса Норфолка, гепатита Б, малярии, герпеса. Начаты работы по созданию съедобных вакцин против туберкулеза, бешенства, легочных инфекций. Предпринимаются попытки создания съедобной вакцины против вируса СПИД путем создания генетических векторов с вставкой генов ВИЧ, кодирующих синтез антигенных белков и вводимых в растения. Съедобные вакцины имеют ряд преимуществ перед обычными вакцинами: безопасность, доступность, экономическая целесообразность и относительная простота.

Физиологические основы продуктивности растений

Способность растений усваивать световую энергию в области ФАР и трансформировать ее в химически активную энергию первично синтезированных органических соединений – важнейшая и уникальная особенность питания и жизнедеятельности растений, а в конечном итоге и процесса формирования размеров и качества урожая.

Физиология растений как наука всегда была направлена на повышение урожая культурных растений. Ученые не могут контролировать уровень ФАР, достигающей поверхности Земли, но должны научиться управлять эффективностью усвоения световой энергии организмом растений. Решающая роль в усвоении световой энергии принадлежит фотосинтезу. Основу теории фотосинтетической продуктивности разработали А. А. Ничипорович и Х. Г. Тооминга. Теория дает представление о потенциально возможных уровнях продуктивности, соотношении показателей фотосинтетических реакций и размеров и качества урожая, принципах оптимизации продукционного процесса. Дальнейшее повышение урожайности культурных растений связано с получением новых высокопродуктивных сортов и гибридов и определением условий, в которых потенциал высокопродуктивных сортов может реализоваться.

В последнее время претерпели эволюцию представления о связи фотосинтеза с продуктивностью растений (В. И. Чиков, КИББ КазНЦ РАН, Казань). На смену идее об определяющей роли фотосинтеза в продукционном процессе пришли представления о продуктивности, которая в большей мере лимитируется транспортными процессами и активностью синтетических процессов в органах, потребляющих ассимиляты. В результате решение вопроса о связи фотосинтеза и продуктивности растений превратилось в исследование этих двух аспектов.

Синтетические процессы в органах-потребителях зависят от количества поступивших ассимилятов. Между отдельными потребителями может возникать конкуренция за получение ассимилятов, которая влияет и на характер распределения ассимилятов по растению. Очень важной является конкуренция между плодозементами и корневой системой. Возможно влияние концентрации ионов нитрата в апопласте на транспорт ассимилятов из листа.

Главные проблемы современной фитофизиологии

Наиболее значительные направления современной физиологии растений были рассмотрены на годичном собрании ОФР в Ростове-на-Дону (2–6 октября 2006 года).

Низкомолекулярный стресс – холодоустойчивость и морозостойкость. Т. И. Трунова (ИФР РАН, Москва) подчеркнула, что реакция растений на низкие положительные и отрицательные температуры связана с их генетическими особенностями, в соответствии с которыми выделяют морозостойкие,

холодостойкие и теплолюбивые растения. Повреждения растений в связи с низкомолекулярным стрессом связаны прежде всего со структурными изменениями мембран и, в первую очередь, плазмалеммы. Вследствие этого наиболее сильный стресс растения испытывают при морозе, поскольку действие низких отрицательных температур сопровождается сильным обезвоживанием клеток (при фазовом переходе воды в лед). Устойчивость растений к холоду и морозу является мультигенным признаком. Рецепция и трансдукция низкотемпературного сигнала подразумевают участие вторичных мессенджеров и МАП-киназных систем.

Следующее направление – адаптация растений к высоким концентрациям солей: взаимодействие водного и солевого обмена. Ю. В. Балнокина (ИФР РАН, Москва) подчеркнула, что подавление роста растений при почвенном засолении связано с токсическим и осмотическим действием ионов. Для преодоления солевого стресса растения используют разные стратегии, которые наиболее четко представлены у галофитов. У соленакапливающих галофитов различаются механизмы депонирования соли в вакуолях. Снижение водного потенциала цитоплазмы и поддержание осмотического баланса между цитоплазматическим и вакуолярным компартментами осуществляется за счет биосинтеза и накопления в цитоплазме низкомолекулярных органических соединений – так называемых осмолитов. Дальний транспорт ионов у галофитов, исключая соль, организован совершенно на других принципах.

Проблема осморегуляции и поддержания градиента водного потенциала в системе целого растения решается преимущественно через биосинтез осмолитов, ион-транспортирующих белков, которые функционируют как система, выводящая ионы из растения, но не депонирующая их внутри. Эту функцию выполняет плазматическая мембрана клеток эпидермиса и коры корня. Механизмом, осуществляющим экспорт Na^+ из растения, является Na^+/H^+ -антипортер плазмалеммы эпидермиса и коры корня.

Следующая проблема – устойчивость растений к тяжелым металлам. По этому вопросу выступил И. В. Серегин (ИФР РАН, Москва). Тяжелые металлы являются сильными стресс-факторами и одними из главных природных токсикантов. Основным источником их поступления является почва. Большинство видов растений накапливают тяжелые металлы исключительно в подземных органах. Наибольшее число видов относится к гипераккумуляторам Ni. Внутриклеточная локализация тяжелых металлов и распределение по тканям корня и побега определяет их токсическое действие на физиологические процессы. Были перечислены несколько неспецифических и специфических систем защиты и детоксикации. Все эти изменения направлены на поддержание гомеостаза. Их эффективность является тем главным фактором, который, наряду с другими особенностями, определяет устойчивость растений к металлам и их способность к гипераккумуляции.

Другая проблема – цитоскелет и его роль в функционировании растительной клетки. По мнению Л. Н. Клячко (ИФР РАН, Москва), цитоскелет растения – высокодинамичная структура, состоящая из тубулиновых микро-

трубочек (МТ) и актиновых микрофиламентов МФ. Цитоскелет играет важную роль во многих аспектах жизни растения, таких, как деление и растяжение клеток, определение их формы и полярности, внутриклеточные движения, внутриклеточные системы передачи сигналов и мн. др. Важны процессы полимеризации актина и тубулина в клетках, локализация компонентов цитоскелета и кооперативность функционирования МТ и МФ, а также свойства МТ и МФ, которые служат «рельсами» для движения молекулярных транспортеров.

Известны три типа моторных белков. Цитоскелет может служить матрицей для биохимических процессов, например гликолиза и синтеза белка, а также для компонентов сигнальных систем. Существует множество уровней регуляции функций цитоскелета: от экспрессии генов актина и тубулина до многообразных и быстрых перестроек у супрамолекулярных структур в ответ на внутриклеточный и внеклеточный стимулы.

Следующая проблема – клеточная стенка как ключевой компартмент растительной клетки. По мнению Т. А. Горшкова (КИББ КазНЦ РАН, Казань), по современным представлениям растительная клеточная стенка (РКС) – сложноорганизованная многофункциональная система. Важнейшее свойство этой стенки – неоднородность различных участков, составляющих основу четко локализованных реакций в ней. Ключевые полимеры РКС – полисахариды. Наиболее распространенными мономерами в них являются моносахариды. Установлены различные типы связи мономеров и, как следствие, множество полисахаридных структур.

Определены группы генов, кодирующих ключевые ферменты метаболизма РКС, включая биосинтез лигнина – основного ароматического компонента стенки. РКС определяет направление и скорость растяжения клетки, формирует архитектуру всего растения, участвует во взаимодействии клеток внутри ткани, распознавании патогенов и обеспечении защиты от них, образовании сигнальных молекул полисахаридов и реакции на стрессовое воздействие. Растительную клеточную стенку правильнее считать внешним компартментом.

Следующую проблему можно назвать так: межклеточный обмен – по симпласту и через апопласт. По мнению О. В. Войцеховской (БИН РАН, Санкт-Петербург), при межклеточном обмене через апопласт вещества должны преодолеть по крайней мере две мембраны: плазмалемму клетки донора и клетки акцептора. В полностью расшифрованном геноме *Arabidopsis thaliana* около 15 % всех генов-транспортеров кодируют белки трансмембранных каналов, из которых почти половина – аквапорины. Особое внимание уделяют исследованиям загрузки клеток флоэмных окончаний сахарами. У апопластной группы растений перенос сахарозы из мезофилла в апопласт осуществляется по градиенту концентрации сахарозы. Предложена модель, согласно которой движущей силой для симпластного переноса веществ между флоэмой и мезофиллом может быть градиент водного потенциала между этими тканями.

Другая актуальная проблема – трансмембранный транспорт воды и аквапорины. По мнению М. С. Трофимовой (ИФР РАН, Москва), транспортные пути воды в растении (апопластный, симпластный и трансмембранный) различаются степенью сопротивления водному потоку. Обнаруженные в мембранах про- и эукариот аквапорины (белки, упрощающие пассивный трансмембранный перенос молекул воды) стимулировали интерес исследователей к выяснению механизмов, определяющих динамику транспорта воды. Растениям характерно большое разнообразие аквапоринов. Доказано, что некоторые аквапорины синтезируются в растительных клетках конститутивно. Отдельные молекулярные механизмы, лежащие в основе аквапорин-опосредованной регуляции осмотической водной проницаемости мембран растительных клеток, в настоящее время можно считать установленными.

Следующая проблема – передача сигналов в растительной клетке. Митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК) клеток растений: парадигма или мираж? По мнению Г. В. Новиковой (ИФР РАН, Москва), основной «валютой» при трансдукции различных сигналов является фосфорилирование белков с участием протеинкиназ. Наиболее интенсивно исследуются митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК), которые кодируются семействами генов Сер/Тре-протеинкиназ, имеющимися у всех эукариот. Три типа протеинкиназ локализованы в цитозоле, где они образуют МАРК-каскад (модуль), который «включается/выключается» при восприятии рецепторами сигналов, бомбардирующих клетки. Одной из характерных функций МАРК-каскадов является усиление (амплификация) сигналов. На основании современных данных обсуждаются проблемы, возникающие при анализе результатов, полученных при изучении экспрессии генов МАРК, а также исследовании *in vitro* энзиматической активности белков МАРК.

Роль кальция в жизни растений рассмотрел С. С. Медведев (СПб. ГУ, Санкт-Петербург). Увеличение концентрации кальция в конкретном участке клетки является мощным и очень информативным сигналом. Ионы Ca^{2+} обладают универсальной способностью при проведении различных сигналов, оказывающих на клетку первичное воздействие (гормонов, патогенов, света, гравитационных и стрессовых воздействий). Одна из особенностей кальциевой передачи сигнала состоит в том, что только с помощью ионов Ca^{2+} возможен волновой способ распространения сигналов по клетке и за её пределами.

Эволюцию и регуляцию пола у растений рассмотрел В. Н. Хрянин (ПГУ, Пенза). Ведущими фитогормонами дифференциации пола у растений являются цитокинины и гиббереллины, а действие других фитогормонов и ингибиторов опосредовано через стимуляцию и подавление активности этих важнейших фитогормонов. Дифференциация пола у растений обусловлена реализацией взаимосвязанных генетической и гормональной программ. Согласно эколого-гормонально-генетической концепции, влияние экологических факторов реализуется через воздействие на эндогенную гормональную систему, которая, в свою очередь, взаимодействует с генетическим аппаратом и обуславливает проявление пола у растений.

Микроорганизмы, колонизирующие высшие растения, вовлекаются в такие процессы, как минеральное питание, устойчивость к стрессовым факторам и к фитопатогенам. Достижением последних лет стало понимание того, что при формировании симбиоза высших растений с микроорганизмами участвуют низкомолекулярные (липохитоолигосахариды и др.) и высокомолекулярные (лектины, ферменты) соединения. Изучены свойства лектинов пшеницы, принимающих участие в колонизации корневой системы азоспириллами, и лектина сои, ответственного за симбиоз растения с природным видом бактерий *B. japonicum*.

Фотосинтез – результат коэволюции гео- и биосфер Земли. П. Ю. Воронин (ИФР РАН, Москва) исходит из того, что биосфера не только продукт эволюции Земли, но и активный участник этого процесса. Предполагает, что на первом этапе эволюции CO_2 преобладал, достигая 98 %. Молекулярный азот составлял около 2 %. Современная атмосфера состоит на 79 % из азота, на 19 % из молекулярного кислорода и лишь на 0,03 % из CO_2 .

Переход геосферы из восстановленного в окисленное состояние представляет собой пример эволюционного преобразования планеты вследствие появления фотосинтеза.

Беспрецедентный эволюционный потенциал Рубиско, его карбоксилазно-оксигеназная активность обеспечили исключительную устойчивость фотосинтеза к изменению условий окружающей среды. Газовый состав атмосферы находится под контролем встречно протекающих окислительно-восстановительных процессов дыхания и фотосинтеза.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кузнецов, В. В. Физиология растений / В. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. – М. : Высш. шк., 2006. – 742 с.
 2. Медведев, С. С. Физиология растений / С. С. Медведев. – СПб. : Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. – 336 с.
 3. Мокроносов, А. Т. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты / А. Т. Мокроносов. – М., 2006. – 448 с.
 4. Учебник по физиологии растений для студентов биологических специальностей вузов / под. ред. И. П. Ермакова. – М. : Изд. центр «Академия», 2005.
 5. Усманов, И. Ю. Экологическая физиология растений / И. Ю. Усманов, З. Ф. Рахманкулова, А. Ю. Кулагин. – М. : Логос, 2001.
 6. Якушкина, Н. И. Физиология растений / Н. И. Якушкина. – 3-е изд. – М. : Просвещение, 2003.
 7. Барбер, С. А. Биологическая доступность питательных веществ в почве / С. А. Барбер. – М., 1988. – 376 с.
 8. Гэлстон, А. Жизнь зеленого растения / А. Гэлстон, П. Девис, Р. Сэттер. – М. : Мир, 1983.
 9. Дерфлинг, К. Гормоны растений. Системный подход / К. Дерфлинг. – М. : Мир, 1985.
 10. Водный обмен растений / В. Н. Жолкевич, Н. А. Гусев, В. А. Капля и др. – М. : Наука, 1989.
 11. Клейтон, Р. Фотосинтез. Физические механизмы и химические модели / Р. Клейтон. – М. : Мир, 1984. – 350 с.
 12. Полевой, В. В. Фитогормоны / В. В. Полевой. – Л., 1982.
 13. Полевой, В. В. Физиология растений / В. В. Полевой. – М. : Высш. шк., 1989.
 14. Скулачев, В. П. Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии / В. П. Скулачев. – М. : Высш. шк., 1989.
 15. Фотосинтез : в 2 т. / под ред. Говинджи. – М. : Мир, 1987.
 16. Эдвардс, С. Фотосинтез C_3 - и C_4 -растений: механизмы и регуляция / С. Эдвардс, Д. Уокер. – М. : Мир, 1986. – 590 с.
 17. Малый практикум по физиологии растений / под ред. А. Т. Мокроносова. – 9-е изд. – М. : Изд-во МГУ, 2002. – 202 с.
 18. Голованова, Т. И. Физиология растений : учеб. пособие / Т. И. Голованова, Н. П. Белоног, Т. Б. Горбанева; Красноярский гос. ун-т. – Красноярск, 2003.
- Периодика: журналы МАИК «Физиология растений», «Экология», «Успехи современной биологии», «Биофизика».

